

Universität Ulm

Zentrum für Innere Medizin

Medizinische Klinik I

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. G. Adler

Schwerpunkt Endokrinologie, Diabetes und Stoffwechsel

Schwerpunktleiter: Prof. Dr. med. B. O. Böhm

**Immunglobulin G-Isotypen der
Autoantikörper gegen
Glutamatdecarboxylase 65**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von

Christiane Michaela Heinrich

aus Landsberg am Lech

2008

Amtierender Dekan: Prof. Dr. med. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. O. Böhm

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. W. Holl

Tag der Promotion: 20.11.2008

Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet.

.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Fragestellung	13
2	Material und Methoden	15
2.1	Probanden	15
2.2	Versuchsdurchführung	15
2.2.1	Aufbereitung des Probandenmaterials	15
2.2.2	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	16
2.2.3	Multiplex Cytokine-Assay	19
2.3	Statistik	22
3	Ergebnisse	23
3.1	Probanden	23
3.2	GAD65-Antikörper	24
3.2.1	Deskriptive Statistik	24
3.2.2	Korrelation GAD65 ELISA mit RIA	26
3.2.3	Korrelation RIA und GAD65 ELISA mit T1D- Manifestationsalter	29
3.3	Zytokine	33
3.3.1	Deskriptive Statistik	33
3.3.2	Korrelation Zytokine mit T1D-Manifestationsalter und Geschlecht	36
3.3.3	Korrelation der Zytokine untereinander	40
3.4	Korrelation der Zytokine mit GAD65-Antikörper	44
3.4.1	Korrelation der Zytokine mit GADA (RIA), GADA (ELISA) – Bivariater Test	44
3.4.2	Korrelation unterschiedlicher Zytokine mit Geschlecht, Manifestationsalter, Diabetesdauer, GADA (RIA) und GADA (ELISA) – Multivariate Testmodelle	44

4	Diskussion	46
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	46
4.1.1	Antikörper	46
4.1.2	Zytokine	50
4.1.3	Antikörper und Zytokine	54
4.1.4	Probleme bei der Arbeit	55
4.2	Erklärungsmodelle - Immunnetzwerk	57
4.3	Schlussfolgerung	58
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis	61
7	Abbildungsverzeichnis	77
8	Tabellenverzeichnis	79
9	Anhang	80
10	Danksagung	102
11	Lebenslauf	104

Abkürzungsverzeichnis

aa	Aminosäure (amino acid)
ABTS	2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
ADBW	Arbeitsgemeinschaft Diabetologie Baden Württemberg
APS	Autoimmunes Polyglanduläres Syndrom
EBV	Epstein-Barr-Virus
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FACS	Fluorescence Activating Cell Sorter
GABA	Gamma-Aminobuttersäure (Gamma-aminobutyric acid)
GAD	Glutamatdecarboxylase
GAD65	Glutamatdecarboxylase 65kD
GADA	Autoantikörper gegen Glutamatdecarboxylase
G-CSF	Granulozytes-Colony Stimulating Factor
GLUT-2	Glucosetransporter-2
GM-CSF	Granulozytes and Monozytes-Colony Stimulating Factor
HLA	Human Leucocyte Antigen
HRP	Horseradish Peroxidase
I	Insulin
IA-2	Tyrosinphosphatase
IA2-Ab	Autoantikörper gegen Tyrosinphosphatase
IAA	Insulin-Autoantikörper
ICA	Islet Cell Antibody (Antikörper gegen Inselzellgewebe)
IDDM	Insulin Dependent Diabetes Mellitus
IDF	International Diabetes Federation
IFN- γ	Interferon gamma
Ig	Immunglobulin

IL	Interleukin
IL-1b	Interleukin 1b
IL-2	Interleukin 2
IL-4	Interleukin 4
IL-5	Interleukin 5
IL-6	Interleukin 6
IL-7	Interleukin 7
IL-8	Interleukin 8
IL-10	Interleukin 10
IL-12	Interleukin 12
IL-13	Interleukin 13
IL-17	Interleukin 17
Inc.	Incorporation
kDa	Kilodalton
LADA	Latent Autoimmune Diabetes in Adults
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MHC	Major Histocompatibility Complex
MICA	Monoclonal Islet Cell Antibodies
MIP-1 β	Macrophage Inflammatory Protein 1 beta
MP	Microplate
MW	Mittelwert
n.b.	nicht bekannt
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NO	Stickstoffmonoxid
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PE	Phycoerythrin
PTP	Protein-Tyrosine-Phosphatase
r	Spearman Korrelationskoeffizient
RIA	Radioimmunoassay

RNA	Ribonucleinsäure
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
SPIDM	Slowly Progressing Insulin Dependent Diabetes Mellitus
T1D	Typ 1 Diabetes mellitus
T2D	Typ 2 Diabetes mellitus
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor alpha
U	Units
UU	Ulm Units
W	Well
WHO	World Health Organization

1 Einleitung und Fragestellung

1.1 Einleitung

Diabetes mellitus ist die häufigste chronische Stoffwechselerkrankung [34]. Nach neuesten Daten der Internationalen Diabetes-Föderation (IDF) wird die Zahl der Diabetes-Patienten weltweit aktuell auf 246 Millionen Menschen geschätzt [54]. Ein Anstieg auf bis zu 380 Millionen Diabetes-Patienten wird für die kommenden 20 Jahre vorausgesagt [54].

Diabetes ist „*die größte Epidemie in der Geschichte der Menschheit*“ verdeutlichte der derzeitige IDF-Präsident Martin Silink diese alarmierenden Zahlen [134].

In Deutschland wird die Prävalenz von Diabetes mellitus derzeit auf 8 Millionen Betroffene geschätzt [43].

Einteilung des Diabetes mellitus

Diabetes mellitus umfasst eine Gruppe von metabolischen Störungen, welche durch eine Hyperglykämie charakterisiert ist [111].

Es gibt zwei Hauptkategorien des Diabetes mellitus, den Diabetes mellitus Typ 1 (T1D) und den Diabetes mellitus Typ 2 (T2D).

T1D entsteht als Folge einer zellulär medierten, chronischen, irreversiblen Autoimmundestruktion der Insulin produzierenden β -Zellen des Pankreas [107]. Dieser Typ ist durch einen absoluten Insulinmangel charakterisiert [111]. Die Manifestation der Erkrankung findet in den meisten Fällen (ca. 70-80%) vor dem 35. Lebensjahr statt, wird jedoch auch zunehmend im höheren Alter beobachtet [107].

Im Gegensatz dazu beruht der T2D auf einer gestörten Insulinsekretion der pankreatischen β -Zellen und einer Insulinresistenz in den Zielgeweben der Insulinwirkung [107]. Hier spricht man von einem relativen Insulinmangel [107]. Meist ist der T2D mit einem sog. metabolischen Syndrom, d.h. stammbetonter Adipositas, Hypertonie und bzw. oder Dyslipoproteinämie, assoziiert [107]. Diese

Form des Diabetes manifestiert sich meist im höheren Lebensalter, wird jedoch in Folge des veränderten Essverhaltens und Bewegungsmangel auch immer häufiger bereits bei Jugendlichen gesehen [111].

In der vorliegenden Arbeit beschäftige ich mich mit dem immun-medierten Diabetes mellitus Typ 1.

Typ 1 Diabetes kann in drei Subtypen unterteilt werden:

- Typ 1 Diabetes mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter
- Typ 1 Diabetes mit Manifestation im Erwachsenenalter
- „Latent Autoimmune Diabetes in Adults“ (LADA).

Diese Einteilung zeigt, dass der T1D in nahezu jedem Alter auftreten kann. Die Subtypen unterscheiden sich sowohl hinsichtlich ihres Phänotyps als auch der Krankheitssymptomatik (Tab. 1).

Tab. 1: Charakteristika der Typ 1 Diabetes Subklassen, T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter, T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter und Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA), und des Typ 2 Diabetes

	T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter	T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter	LADA	T2D
Erkrankungs- alter	im Kindes- und Jugendalter	im Erwachsenenalter	im Erwachsenenalter	im mittleren bis höheren Alter
Gewicht	normal	normal	normal bis übergewichtig	übergewichtig
Auftreten der Symptome	meist akut	meist akut	meist akut	meist langsam
Insulin- bedürftigkeit	von Anfang an	von Anfang an	nach einigen Monaten bis Jahren meist insulinbedürftig	erst im späteren Verlauf
Krankheits- zeichen	Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust, Juckreiz, erhöhte Infektanfälligkeit, anhaltende Müdigkeit, Leistungsabfall	Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust, Juckreiz, erhöhte Infektanfälligkeit, anhaltende Müdigkeit, Leistungsabfall	Beschwerden treten rascher als beim T2D auf, Krankheit schreitet bis zum Insulinmangel schneller voran.	wenig, bis gar keine Symptome, häufig Zufallsbefund
	Ketoazidose	Ketoazidose	Ketoazidose selten	Ketoazidose sehr selten

Sonderform LADA

Beim „Latent Autoimmune Diabetes in Adults“ handelt es sich um eine Sonderform, die eigentlich zwischen dem T1D und dem T2D einzuordnen ist. Das Erscheinungsbild der Patienten ähnelt dem der T2D-Patienten, die genetischen und die immunologischen Merkmale entsprechen jedoch zu großen Teilen dem T1D [99].

LADA wird bei mehr als 10% der initial nicht insulinbedürftigen, und somit zunächst als Typ 2 diagnostizierten, Diabetespatienten gefunden. Diese Sonderform des Typ 1 Diabetes zeigt somit vermutlich eine höhere Prävalenz als der „klassische“ T1D [83].

LADA wird durch drei klinische Merkmale definiert: der Patient muss zum Zeitpunkt der Diagnose des Diabetes älter als 30 Jahre sein, es müssen Diabetes-assoziierte Autoantikörper nachweisbar sein und der Patient sollte initial, für einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten nach Diagnose, kein Insulin zur Therapie benötigen [35].

„Latent“ steht bei LADA dafür, dass ohne eine Testung auf Diabetes-assoziierte Antikörper es nicht möglich wäre zu erkennen, dass es sich um autoimmunen Diabetes handelt. „Adult“ wurde gewählt, da man davon ausging, dass diese Diabetesform nur bei Erwachsenen vorkommt [84].

Diese Form des Diabetes wurde früher auch „Slowly Progressing Insulin Dependent Diabetes“ (SPIDM) [73] oder „Typ 1.5 Diabetes“ [99] genannt.

Ätiologie des Typ 1 Diabetes

Typ 1 Diabetes mellitus entsteht auf der Grundlage einer genetischen Prädisposition. Zusätzlich triggern verschiedene Umweltfaktoren den Beginn von autoimmunologischen Prozessen, die zur Zerstörung der pankreatischen β -Zellen und schließlich zur Manifestation des T1D führen.

Genetische Faktoren

Bei der Entstehung des T1D spielt die genetische Prädisposition eine bedeutende Rolle.

Es ist bekannt, dass etwa 5-10 % der T1D-Patienten eine positive Familienanamnese aufweisen [17]. Verwandte ersten Grades tragen ein höheres Risiko an T1D zu erkranken, als Personen aus der allgemeinen Bevölkerung (ca. 5-6% gegenüber ca. 0,4%) [122]. Des Weiteren wurde gezeigt, dass monozygote Zwillinge eine deutlich höhere Konkordanz für die Erkrankung (30-40%) aufweisen als dizygote Zwillinge (6%) [101, 117].

Die T1D-Entstehung ist v.a. mit den Genen des sog. „Major-Histocompatibility-Complex“ (MHC) auf Chromosom 6p21 des menschlichen Genoms (IDDM1) assoziiert [7, 20, 27, 147]. Es sind die „Human Leucocyte Antigen“ (HLA)-Klasse-II-Allele, die etwa 60-70% der genetischen Prädisposition zum T1D ausmachen [70]. Das höchste genetische Risiko für Typ 1 Diabetes ist mit den Genotypen DRB1*0401/DQB1*0302 und DRB1*0301/DQB1*0201 verbunden [155].

Mittlerweile sind mehr als 20 verschiedene weitere genetische Loci mit der Entstehung des T1D in Verbindung gebracht worden.

Umweltfaktoren

Neben der genetischen Prädisposition steht auch der Einfluss von exogenen Faktoren in Zusammenhang mit der Ätiologie des T1D. Untersuchungen an Zwillingen zeigten, dass nur bei 30-40% von monozygoten Zwillingen beide Geschwister an T1D erkranken [101, 117]. Wenn dabei der erste Zwilling erst nach dem 25. Lebensjahr die Erkrankung entwickelt, ergibt sich sogar nur eine Konkordanz von 5% [167]. Diese Ergebnisse lassen auf einen nicht unerheblichen Einfluss von Umweltfaktoren bezüglich der Manifestation eines T1D schließen.

Der Typ 1 Diabetes weist eine steigende Inzidenz auf. Einige Studien konnten zeigen, dass diese Zunahme des T1D nicht in allen Altersklassen gleichmäßig verteilt ist, sondern, dass vielmehr ein deutlicher Shift zu einer Manifestation im jüngeren Alter beobachtet werden kann [113, 160]. Diese Veränderungen geschehen zu schnell, um durch eine Veränderung im Genpool erklärt werden zu können. Sie scheinen wohl vielmehr das Ergebnis von Veränderungen in unserer Umwelt zu sein [37, 45].

Eine sehr häufig diskutierte These stellt der Einfluss von Virusinfektionen auf die Entwicklung von T1D dar. In frisch manifestierten T1D-Patienten konnten in epidemiologischen Untersuchungen gehäuft Virusantikörper gefunden werden [141]. Es werden Zusammenhänge mit Enteroviren, Rotaviren, Rubellaviren, Zytomegalieviren, Epstein-Barr-Viren bzw. Retroviren vermutet [25, 52, 100, 104, 170, 171, 172]. Als möglicher Pathomechanismus im T1D wird das sogenannte „Molecular Mimicry“ diskutiert. Unter „Molecular Mimicry“ versteht man, dass Moleküle auf der Oberfläche von Krankheitserregern körpereigenen Molekülen ähneln oder mit ihnen identisch sind, sogenannte Sequenzhomologien. Werden diese Moleküle vom Immunsystem als Antigen erkannt, kann sich die darauf folgende Immunreaktion nicht nur gegen den Erreger, sondern auch gegen körpereigenes Gewebe richten. Dieser Vorgang wird auch Kreuzreaktion genannt und gilt als eine der Ursachen zur Entwicklung von Autoimmunerkrankungen.

Sequenzhomologien wurden z.B. zwischen den Cocksackie-B4-Viren und dem T1D-assoziierten Autoantigen Glutamatdecarboxylase (GAD65) entdeckt [3, 68]. Auch zwischen dem Virusprotein 7 des Rotavirus und einem weiteren T1D-assoziierten Autoantigen, der Tyrosinphosphatase (IA-2), finden sich strukturelle Ähnlichkeiten [47, 48]. Durch die Studie von *Richter et al.* wurde diese Hypothese des „Molecular Mimicry“ jedoch in Frage gestellt. Es konnte dabei keine Kreuzreaktivität von Autoantikörpern zwischen dem Cocksackie-B4-2C Protein und der Glutamatdecarboxylase festgestellt werden [118].

Neben Viren wurden auch Nahrungsbestandteile, Impfungen, klimatische Faktoren, Toxine, wie z.B. Nitrosamine, und Stress als exogene Trigger zur Entstehung des T1D genannt [25, 26, 32, 72, 159].

Obwohl extensive Forschung zu diesen Einflussfaktoren betrieben wird, konnte noch kein exogenes Agens definitiv als triggernder Faktor für den T1D bewiesen werden.

Pathogenese des Typ 1 Diabetes:

Typ 1 Diabetes ist eine Autoimmunerkrankung, die durch T-zell vermittelte Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen in den pankreatischen Inseln verursacht wird [23].

Die genetische Prädisposition stellt eine Voraussetzung für die Entstehung des T1D dar. Ein auslösender Faktor führt zum Beginn der autoimmunen β -Zelldestruktion. Es kommt zu einer vollständigen Infiltration der Inseln durch pathogene T-Zellen, aber auch von B-Zellen und Makrophagen. Bereits in dieser Phase, der sog. prädiabetischen Phase, können Inselzellantikörper und Insulin-Autoantikörper auftreten. Sobald mehr als 80-90% der β -Zellen ihre Funktion verloren haben kommt es zur klinischen Manifestation der Erkrankung (Abb. 1). [111]

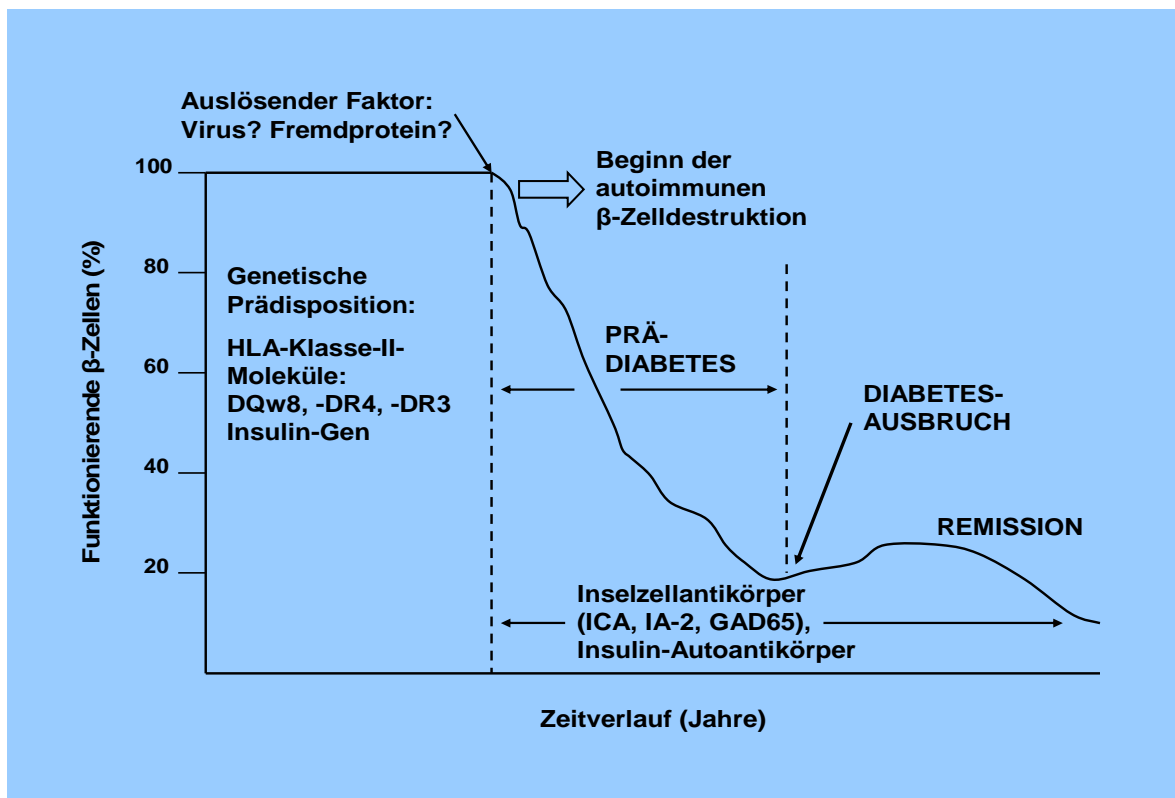


Abb. 1: Hypothetisches Modell zur T1D-Entstehung

HLA = Human Leucocyte Antigen, ICA = Islet cell Antibody (Antikörper gegen Inselzellgewebe), IA-2 = Tyrosinphosphatase, GAD65 = Glutamatdecarboxylase 65; Modifiziert nach Spinas GA, Lehmann R: Der Diabetes mellitus: Diagnose, Klassifikation und Pathogenese. Schweiz Med Forum 20: 519-525 (2001) [140]

Bei T1D-Manifestation ist somit die Mehrzahl der pankreatischen Inseln zerstört. Die Primärprävention der Erkrankung erfordert daher eine frühzeitige Erkennung der Immunprozesse und ein zeitiges Eingreifen in die fortschreitende Zerstörung der insulinproduzierenden Zellen.

Bei der Pathogenese des T1D sind verschiedene Immunphänomene beteiligt: Die Zerstörung der pankreatischen β -Zellen ist durch humorale und zelluläre Autoimmunphänomene gekennzeichnet.

Exogene wie endogene Antigene werden durch antigenpräsentierende Zellen (dendritische Zellen, B-Lymphozyten und Makrophagen) über MHC-Klasse-I bzw. MHC-Klasse-II Moleküle den CD8+ bzw. CD4+ T-Zellen präsentiert. Autoreaktive T-Zellen werden im Thymus durch negative Selektion eliminiert, so dass eine Immunität gegenüber körpereigenen Zellen im Vorfeld ausgeschlossen sein müsste. In peripheren lymphatischen Geweben wird eine Autoreaktivität zusätzlich durch den Mechanismus der peripheren Toleranz (Ignoranz, Anergie, regulatorische T-Zellen [T_{reg}]) überwacht.

Es wird angenommen, dass bei der Entstehung des T1D ein genetisch bedingter Defekt in der T-Zell-Toleranz vorhanden ist, der dazu führt, dass autoantigenspezifische CD8+ T-Effektorzellen in der Peripherie vorhanden sind [76]. In tierexperimentellen Studien wurde auch den CD4+ Th1-Zellen eine zentrale Rolle in der Pathogenese des T1D zugesprochen [77, 98].

Die T-Zell Reaktionen sind dabei gegen verschiedene Antigene der pankreatischen β -Zellen, sog. Autoantigene, gerichtet. *Bottazzo et al.* fanden im Jahr 1974 Antikörper, die gegen Bestandteile der Pankreasinseln gerichtet sind und als sog. Zytoplasmatische Inselzell-Antikörper (ICA) bekannt wurden [13]. Bis heute konnten viele Antigene gefunden werden, die von den sog. ICA erkannt werden (Tab. 2). Die Hauptautoantigene sind dabei Glutamatdecarboxylase 65 (GAD65), Thyrosinphosphatase IA-2 und Insulin (I) [81].

Tab. 2: Auflistung der bei Typ 1 Diabetes entdeckten Autoantigene

Autoantigen	Autor, Jahr	Quelle
Glutamatdecarboxylase 65	Baekkeskov, 1990	[4]
Tyrosinphosphatase IA-2	Lan, 1994	[79]
Insulin	Palmer, 1983	[105]
Heat-Shock-Protein-65	Jones, 1990	[62]
Carboxypeptidase H	Castano, 1991	[18]
ICA 69	Pietropaolo, 1993	[109]
GLUT-2	Inman, 1993	[53]
SOX-13 (ICA-12)	Kasimiotis, 2000	[65]
Sulfatide	Buschard, 1993	[15]

lokalisiert. Die beiden Isoformen sind in ihrer Aminosäuresequenz (aa) zu 65% identisch und unterscheiden sich v.a. in ihren jeweils ersten 100 aa [14, 64].

Im Serum von T1D-Patienten können zum Zeitpunkt der Manifestation der Erkrankung sowohl Antikörper gegen GAD65 als auch Antikörper gegen GAD67 gefunden werden. Im Laufe der Erkrankung nimmt der Antikörper-Titer meist ab [68].

Antikörper gegen GAD65 (GADA) haben sich als serologische Marker für den präklinischen als auch für den klinischen T1D erwiesen, wogegen Antikörper gegen GAD67 eine geringe Bedeutung haben [130]. Bereits viele Jahre vor der klinischen Manifestation des T1D können sich Antikörper gegen GAD65 entwickeln. Zum Zeitpunkt der Manifestation findet man bei 70-80% der T1D-Patienten GAD65-Autoantikörper [130, 131, 158].

Bei Patienten mit Diabetesmanifestation im Erwachsenenalter, bei denen eine Klassifikation der Erkrankung in Typ 1 oder Typ 2 nicht eindeutig ist, stellen die Autoantikörper gegen GAD65 einen wichtigen Parameter dar. Hohe GADA-Titer im Serum der Patienten deuten auf einen progressiven Verlust der β -Zellen hin. Bei niedrigen GADA-Leveln läuft der β -Zell-Verlust dagegen deutlich langsamer ab [11,12]. Das Vorhandensein von GAD65-Autoantikörpern zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation gibt einen Hinweis auf spätere Insulinbedürftigkeit [89].

GAD65-Autoantikörper können sowohl mittels RIA (Standardverfahren) als auch durch ELISA nachgewiesen werden. Sie sind sehr sensitive Marker für die Prädiktion des T1D [153], sind jedoch nicht spezifisch für den Diabetes, sondern kommen auch bei seltenen anderen Erkrankungen, wie dem *Stiff-person Syndrome* oder dem autoimmunen polyendokrinen Syndrom (APS) vor [135, 152]. *Richter et al.* konnten als erste humane monoklonale Autoantikörper gegen GAD65 (MICA) aus Patienten mit neu diagnostiziertem T1D isolieren [118] und die Charakteristika dieser Antikörper detailliert beschreiben.

Protein-Tyrosinphosphatase IA-2

Protein-Tyrosinphosphatase IA-2 ist ein Mitglied der transmembranen Protein-Tyrosinphosphatase(PTP)-Familie und ist auf Chromosom 2q35 lokalisiert [81]. Dieses Protein wird sowohl in neuroendokrinen Geweben, als auch in den β -Zellen und α -Zellen der Pankreasinseln expremiert.

Autoantikörper gegen IA-2 (IA2-Ab) sind bei 50-70% der T1D-Patienten mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter und bei 30-50% der T1D-Patienten mit Manifestation im Erwachsenenalter nachweisbar [131, 158, 166]. Die sensitivste Methode zur Detektion der IA2-Ab ist der Radioimmunoassay (RIA).

Insulin

Insulin ist ein kleines Protein von 51 Aminosäuren, das auf Chromosom 11p15 kodiert ist [106]. Es ist das einzige Hauptautoantigen im T1D, das β -zellspezifisch ist [60]. Autoantikörper gegen Insulin (IAA) sind bei 50-70% der Kinder, die an T1D erkrankt sind, zu finden. Bei älteren Patienten sind sie in nur 20-30% der Fälle vorhanden [157, 158, 165, 166]. Die Standardmethode zum Nachweis der IAA ist der Radioimmunoassay (RIA). Nach Beginn einer Insulintherapie des T1D können Antikörper gegen das exogene Insulin induziert werden, die nicht von den IAAs unterschieden werden können. Deshalb ist bei Patienten, die eine Insulintherapie erhalten, die Bestimmung der IAAs nicht mehr sinnvoll und aussagekräftig.

Antikörperstruktur und -einteilung

Antikörper, auch Immunglobuline (Ig) genannt sind bifunktionelle Moleküle, die im Wesentlichen zwei verschiedene Aufgaben haben: Antigenerkennung und Interaktion mit Effektormolekülen und Effektorzellen. Diese beiden Aufgaben spiegeln sich in der Struktur der Antikörper wider. Sie bestehen aus einem variablen Teil, der je nach Antigenspezifität verschieden ist, und einem konstanten Teil, der die Effektormechanismen auslöst und sich zwischen den verschiedenen Klassen und Subklassen der Immunglobuline unterscheidet.

Alle Antikörper besitzen eine Grundstruktur, die aus vier Polypeptidketten, zwei schweren Ketten und zwei leichten Ketten, besteht. Die schweren und leichten Ketten werden durch intra- und intermolekulare Disulfidbrücken und Protein-Protein-Wechselwirkungen stabilisiert.

Beim Menschen gibt es fünf Klassen von Immunglobulinen: IgM, IgD, IgG, IgE und IgA. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich Immunglobulin G untersucht. Diese Antikörperklasse kann erneut in die Subklassen IgG1, IgG2, IgG3 und IgG4 unterteilt werden. Diese vier IgG-Subklassen stellen den Hauptanteil (75%) des

Serumimmunglobulins dar [138]. Sie weisen zu mehr als 95% Homologien in ihrer Aminosäuresequenz der konstanten Domänen der schweren Ketten auf.

Zytokine

Zytokine sind regulatorische Peptide die von allen kernhaltigen Zellen des Körpers produziert werden können. Sie wirken in der Regel lokal über Oberflächenrezeptoren und aktivieren Signaltransduktionskaskaden, die zu veränderter Genexpression, Stoffwechselaktivität, Zelldifferenzierung, Proliferation, Migration und Apoptose führen können [57].

Bei Typ 1 Diabetes wird ein Ungleichgewicht der Zytokine als pathophysiologischer Faktor diskutiert.

Man kann die Zytokine aufgrund ihrer Struktur verschiedenen Familien zuordnen: Es gibt Hämatopoetine, Interferone, Chemokine und Mitglieder der TNF-Familie. Tab. 3 gibt eine Übersicht über die Zytokine, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden.

Zytokine können auf der Basis ihrer biologischen Antwort, abhängig von deren Effekt auf immunologische Zellen, in proinflammatorische und antiinflammatorische Zytokine eingeteilt werden. Die proinflammatorischen Zytokine IFN- γ , TNF- α und IL-2 werden von Th1-Zellen gebildet und führen in Richtung zellulärer Immunantwort [102]. IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 sind dagegen antiinflammatorische Zytokine, die von Th2-Zellen produziert werden und eine humorale Immunantwort induzieren [102]. Monozyten und Makrophagen produzieren die proinflammatorischen Zytokine IL-1 (α und β), TNF- α und IFN- γ [168].

Tab. 3: Zytokine (Klassenzuordnung, Produktionsort und Wirkungen)

GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon γ , TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin, NK-Zellen = natürliche Killerzellen.

Zytokine	Klasse	Produzierende Zellen	Wirkungen
GM-CSF	Hämatopoetine	Makrophagen, T-Zellen, Thymozyten, B-Zellen, NK-Zellen	stimuliert Wachstum und Differenzierung der myelomonozytischen Linie, besonders der dendritischen Zellen
G-CSF	Hämatopoetine	Fibroblasten, Monozyten	stimuliert Entwicklung und Differenzierung neutrophiler Zellen
IFN-γ	Interferone	T-Zellen, NK-Zellen	Aktivierung der Makrophagen, erhöhte Expression von MHC-Molekülen und Komponenten des Antigenprozessierungssystems, Ig-Klassenwechsel, hemmt Th2-Zellen
TNF-α	TNF-Familie	Makrophagen, NK-Zellen, T-Zellen	lokale Entzündungen, Endothelaktivierung
MCP-1	CC-Chemokine	Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Keratinozyten	aktiviert Makrophagen, Histaminfreisetzung bei basophilen Zellen, stimuliert TH2-Immunität
MIP-1β	CC-Chemokine	Monozyten, Makrophagen, neutrophile Zellen, Endothel	konkurriert mit HIV-1
IL-1β	keine Zuordnung	Makrophagen, Endothelzellen, B-Zellen, Fibroblasten, Epithelzellen, Astrozyten, Keratinozyten	Fieber, T-Zell-Aktivierung, Makrophagenaktivierung
IL-2	Hämatopoetine	T-Zellen	Proliferation der T-Zellen
IL-4	Hämatopoetine	T-Zellen, Mastzellen	B-Zell-Aktivierung, IgE-Wechsel, hemmt TH1-Zellen
IL-5	Hämatopoetine	T-Zellen, Mastzellen	Wachstum und Differenzierung der eosinophilen Zellen
IL-6	Hämatopoetine	T-Zellen, Makrophagen, Endothelzellen	Wachstum und Differenzierung von T- und B-Zellen, Produktion von Akute-Phase-Proteinen, Fieber
IL-7	Hämatopoetine	Nicht T-Zellen	Wachstum von Prä-B-Zellen und Prä-T-Zellen
IL-8	CXC-Chemokin	Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Keratinozyten, Endothelzellen	mobilisiert, aktiviert und degranuliert neutrophile Zellen, Angiogenese
IL-10	keine Zuordnung	T-Zellen, Makrophagen, EBV-transformierte B-Zellen	wirksamer Inhibitor von Makrophagenfunktionen
IL-12	keine Zuordnung	B-Zellen, Makrophagen	aktiviert NK-Zellen, induziert die Differenzierung von CD4+ T-Zellen zu Th1-ähnlichen Zellen
IL-13	Hämatopoetine	T-Zellen	Wachstum und Differenzierung der B-Zellen, hemmt Th1-Zellen und die Produktion inflammatorischer Cytokine durch Makrophagen
IL-17	keine Zuordnung	CD4+ Gedächtniszellen	induziert Cytokinproduktion bei Epithelien, Endothelien und Fibroblasten

Nach Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M: Anhang III: Cytokine und ihre Rezeptoren. In: Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M (Hrsg) Immunologie, 5. Aufl, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, S. 725-727 (2002c) [59]

1.2 Fragestellung

Typ 1 Diabetes kann in fast jedem Alter auftreten. Die Ursachen für die hohe Variabilität im Manifestationsalter sind jedoch bis heute nicht ausreichend bekannt. Man weiß, dass in den verschiedenen Altersgruppen das Vorkommen der Autoantikörper eine unterschiedliche Verteilung annimmt. So werden bei Kindern mit T1D häufig Insulinautoantikörper gefunden [156], bei Erwachsenen dagegen selten. IA-2 Antikörper fallen oft nach Diagnose wieder ab [38] und GAD65-Autoantikörper neigen dazu, lange zu persistieren [28]. Des Weiteren finden sich Unterschiede in den HLA-Merkmalen der verschiedenen Altersgruppen. Tab. 4 soll einen Überblick über die Krankheitsmerkmale der verschiedenen T1D-Subklassen geben.

Tab. 4: Merkmale (Erkrankungsalter, Konkordanz unter Zwillingen, HLA-Merkmale, Autoantikörper und Plasmainsulin) der verschiedenen T1D-Subklassen: T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter, T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter, Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA).
IAA = Insulin-Autoantikörper, GADA = GAD65-Autoantikörper, IA-2-Ab = Autoantikörper gegen Tyrosinphosphatase, HLA = Human Leucocyte Antigen

	T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter	T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter	LADA
Erkrankungsalter	im Kindes- und Jugendalter	im Erwachsenenalter	im Erwachsenenalter
Konkordanz unter monozygoten Zwillingen	mittelgradig	sehr niedrig	?
HLA-DR3/-DR4	mittelgradig	selten	selten-mittelgradig
Protektive HLA-Genotypen (HLA-DR2)	sehr niedrig	niedrig	mittelgradig
Autoantikörper	IAA GADA IA-2-Ab	GADA IA-2-Ab	GADA IA-2-Ab
Plasmainsulin	sehr niedrig	niedrig	niedrig

Nach Leslie RDG, Williams R, Pozzilli P: Type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults (LADA): one end of the rainbow. J Clin Endocrin Metab 91: 1654-1659 (2006) [84]

Unklar war bisher, ob in den verschiedenen Krankheitsklassen des T1D Unterschiede in der Immunreaktion zu finden sind. Um dieser Frage nachzugehen sollen die GAD65-Autoantikörper, insbesondere die Immunglobulin-Klasse IgG, und die Zytokinmuster im Serum von T1D-Patienten untersucht werden.

Folgende Fragestellungen wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht:

1. Wie sieht die Verteilung der IgG-Subklassen der GAD65-Autoantikörper in den verschiedenen Krankheitsklassen des T1D aus?
2. Gibt es Unterschiede im Profil der Zytokine zwischen T1D-Patienten mit Erkrankungsmanifestation im Kindes- und Jugendalter, im Erwachsenenalter und LADA-Patienten?
3. Kann ein Zusammenhang zwischen Zytokinen und GAD65-Autoantikörper-Subklassen gefunden werden?

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Das untersuchte Probandenkollektiv besteht aus Patienten mit manifestem T1D. Es wurde Material von zwei verschiedenen, Baden-Württemberg basierten Populationsstudien verwendet. Dies waren die ADBW-End-1-Studie und die ICA/GAD A-Studie (Bad Mergentheim).

Die Rekrutierung der Patienten mit T1D (N=242) erfolgte in der Diabetesklinik Bad Mergentheim (N₁=210) und im Rahmen der ADBW End-1-Studie in Baden-Württemberg (N₂=32). Einschlusskriterien waren die Diagnose eines manifesten T1D gemäß den WHO-Kriterien (Diabetic Medicine, 1998) und ein hoher Antikörpertiter gegen die Glutamatdecarboxylase 65 (RIA) von mindestens 30 U/ml.

Ausschlusskriterien: Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus oder eine sehr seltene Diabetesform, wie z.B. ein pankreatopriver Diabetes.

Von jedem Patienten wurden 5-10 ml Vollblut gewonnen.

2.2 Versuchsdurchführung

2.2.1 Aufbereitung des Probandenmaterials

Das Serum wurde nach Zentrifugation bei 3000rpm für 10-20min bei 4°C gewonnen. Es wurde zur weiteren Diagnostik bei -20°C archiviert.

Bei allen Patienten wurden die Autoantikörper-Titer gegen Glutamatdecarboxylase 65 mittels eines Radio-Immunoassay (RIA), der Standard-Methode für diese Messung, bestimmt.

Bei Radio-Immunoassays wurden zu einer Lösung von radioaktiv markiertem Antigen, im vorliegenden Fall ³⁵S-GAD65, das Testserum gegeben und inkubiert.

Waren im Serum GAD65-Antikörper vorhanden, so banden diese das radioaktiv markierte Antigen GAD65. Komplex-gebundenes Antigen wurde von ungebundenem Antigen getrennt und die Radioaktivität der GAD65-Antigen/Antikörper-Komplexe wurde bestimmt und mit Standardkurven verglichen.

2.2.2 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Die Bestimmung der Glutamatdecarboxylase-Autoantikörper (GADA), im speziellen die Subklassen Immunglobulin G_{gesamt}, Immunglobulin G1 und Immunglobulin G4, erfolgte mittels eines ELISA von *Roche*, das auf der Basis humaner monoklonaler Antikörper (MICA) gegen GAD65 entwickelt wurde.

Materialien und Reagenzien:

Diaplets Anti-GAD^{plus} Kit, Roche, Deutschland

96 Well Streptavidin-vorbeschichtete Mikroplatten (MP) Module

GAD-Biotin

Beschichtungspuffer

Probenpuffer

Waschpuffer

Konjugier-Puffer

Anti-GAD Standard

Anti-GAD Positivkontrolle

Anti-human-IgG-HRP

ABTS Substratlösung

Doppeldestilliertes Wasser

Maus anti-Human IgG1 Monoklonale Antikörper, HRP konjugiert, Genetex, USA

Maus anti-Human IgG4 Monoklonale Antikörper, HRP konjugiert, Genetex, USA

ELISA-Lesegerät SLT Spectra (405/620nm), SLT Labinstrumente, Österreich

Mikroplatten-Schüttler Biometra WT16

Synelisa Software, elias Medizintechnik, Freiburg, Deutschland

Versuchsablauf:

In einem ersten Schritt wurde GAD-Biotin mit 0,5 ml doppeldestilliertem Wasser für 10 min bei Raumtemperatur (RT) redilutiert. Nach 30 min wurden dem GAD-Biotin 15 ml Beschichtungspuffer zugefügt. Zu 50 ml Waschpuffer wurden 450 ml doppeldestilliertes Wasser gegeben; anschließend 10min abgedunkelt bei RT

bewegt und 30 min abgedunkelt inkubiert (RT). Die Serumproben wurden 5 min bei 3000 rpm zentrifugiert. Anti-human-IgG-HRP wurde mit 1 ml doppeldestilliertes Wasser rediluiert und 15 min gerollt.

Von der GAD-Biotin-Lösung wurden 100 μ l/W in die 96 Well Streptavidin-vorbeschichtete Mikroplatte gegeben und anschließend 60 min bei 300 rpm RT inkubiert. GAD-Biotin wurde durch Streptavidin an die Mikroplatte gebunden. Ungebundenes GAD-Biotin wurde durch vier Waschvorgänge mit je 200 μ l Waschpuffer-Verdünnung entfernt. Anschließend wurden die Standard- und Proben-Verdünnungen (100 μ l/W) zugegeben. Die Verdünnungen der Standards und Proben mit dem Probenpuffer wurden wie folgt gewählt:

- Standard, Positivkontrolle 1:25
- Serum zur Bestimmung von Immunglobulin G_{gesamt} 1:1000
- Serum zur Bestimmung von Immunglobulin G1 1:20
- Serum zur Bestimmung von Immunglobulin G4 1:10.

Bei 90-minütiger Inkubation (300rpm, RT) wurden die GAD-spezifischen Autoantikörper an GAD-Biotin gebunden. Anschließend vier Waschvorgänge (je 200 μ l). Es wurden dann jeweils die mit Peroxidase (HRP) gekennzeichneten Anti-human-IgG_{gesamt}, -IgG1 oder IgG4 in die Wells gegeben (100 μ l/W). Die Verdünnungen mit dem Konjugier-Puffer waren wie folgt:

- Anti-human-IgG_{gesamt}-HRP 1:29
- Maus anti-Human IgG1-HRP 1:150
- Maus anti-Human IgG4-HRP 1:75

Diese Antikörper banden bei Inkubation (60 min, 300 rpm, RT) an ein zweites differentes Epitop der GAD-Autoantikörper. Ungebundene Antikörper wurden durch vier Waschvorgänge mit je 200 μ l Waschpuffer-Verdünnung entfernt.

Zuletzt wurde die Peroxidase, die in dem Komplex gebunden war, durch ein ABTS Substrat (100 μ l/W) entwickelt. Der grüne Farbumschlag wurde quantitativ in einem Fotometer bei 405 nm bestimmt (Abb. 2).

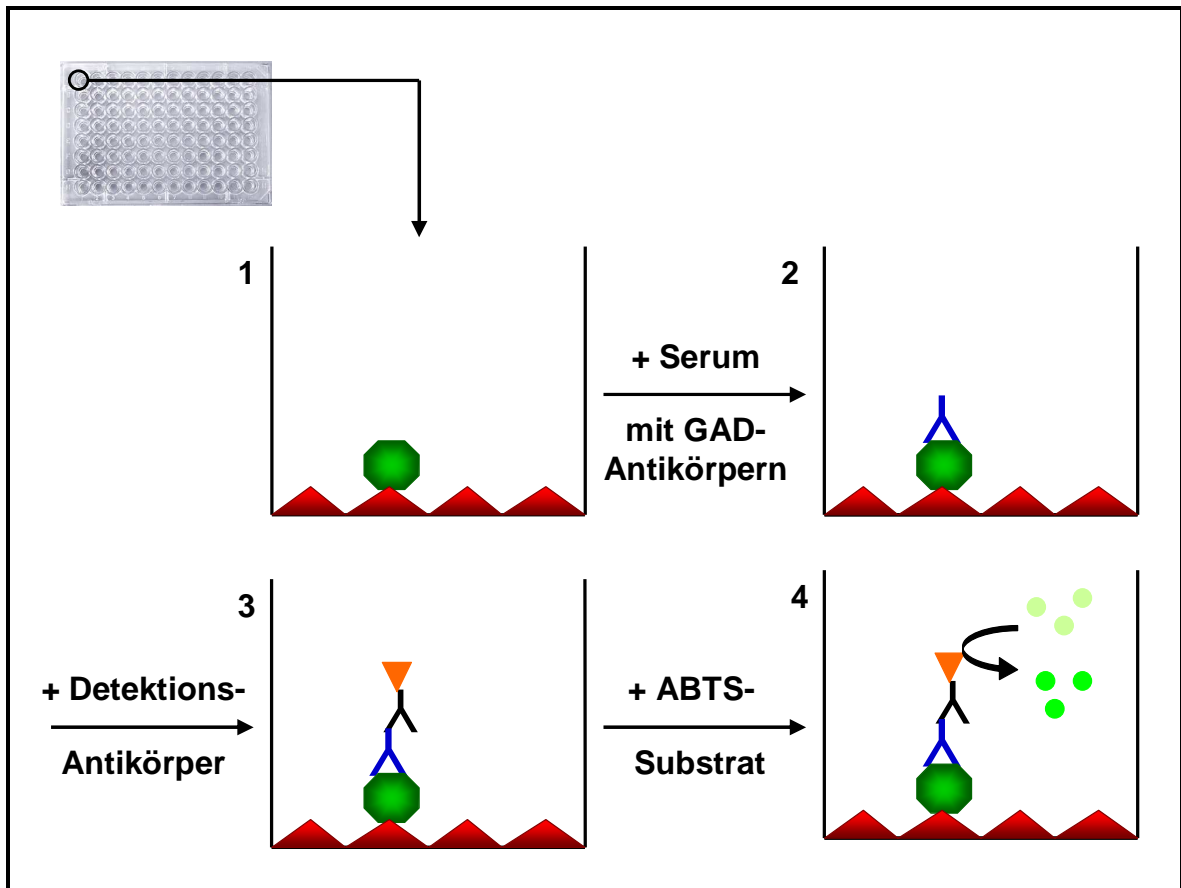


Abb. 2: Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay: 1) GAD-Biotin wird durch Streptavidin an die Mikroplatte gebunden; 2) GAD-Autoantikörper ($\text{IgG}_{\text{gesamt}}$, IgG1 oder IgG4) aus dem Serum binden GAD-Biotin; 3) Peroxidase (HRP) gekoppelte Detektionsantikörper binden GAD-Autoantikörper; 4) Zugabe des ABTS-Substrates führt zum Farbumschlag durch die Peroxidase

2.2.3 Multiplex Cytokine-Assay

Es wurde ein Bio-Plex Cytokine Assay angewandt. Dieser Test ist darauf ausgelegt 17 humane Zytokine (Interleukine 1 β , 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12,13, 17, TNF α , INF- γ , GM-CSF, G-CSF, MCP-1 und MIP-1 β) in einem Ansatz zu detektieren und zu quantifizieren. Grundsätzlich ist der Ablauf des Assays mit einem Sandwich ImmunoAssay zu vergleichen.

Materialien und Reagenzien

Bio-Plex Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Bio-Plex Assay-Puffer

Bio-Plex Waschpuffer

Bio-Plex Detektionsantikörper-Verdünnungsmittel

Streptavidin-PE

96-Well Filter-Platte

Anti-Zytokin Konjugier-Puffer

Zytokin Detektionsantikörper

Zytokin-Standards

Bio-Plex humanes Serumproben-Verdünnungsmittel

Bio-Plex humanes Serumstandard-Verdünnungsmittel

Anti-Zytokin konjugierte Beads (25x Konzentration)

Bio-Plex Suspensions-Array System, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Bio-Plex Validations-Kit, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Bio-Plex Kalibrierungs-Kit, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Mikrotiterplatten-Schüttler, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Filterplatten-Vakuumgerät, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Vortexer, Bio-Rad Laboratories Inc., USA

Versuchsablauf

Zunächst wurde die Serumproben mit Bio-Plex humanes Serumproben-Verdünnungsmittel (Verhältnis 1:3) verdünnt. Ein Röhrchen Zytokin-Standard wurde 30 sec *quick-spin* zentrifugiert und anschließend wurden 500 μ l Bio-Plex humanes Serumstandard-Verdünnungsmittel zugegeben, so dass eine 50000 pg/ml Standardlösung entsteht. Aus dieser Standardlösung wurde mit dem Serumstandard-Verdünnungsmittel eine Verdünnungsreihe mit den Konzentrationen 8000 pg/ml, 2000 pg/ml, 500 pg/ml, 125 pg/ml, 31,25 pg/ml, 7,81 pg/ml, 1,95 pg/ml und 0,49 pg/ml hergestellt. Anti-Zytokin konjugierte Beads (240 μ l) wurden für 15-20 sec gevortext und dann mit Bio-Plex Assay-Puffer (5760 μ l) verdünnt. Zytokin-Detektionsantikörper (120 μ l) wurde 30 sec *quick-spin*

zentrifugiert und mit Bio-Plex Detektionsantikörper-Verdünnungsmittel (2880 µl) verdünnt. Streptavidin-PE (60 µl) wurde 30 sec *quick-spin* zentrifugiert und Bio-Plex Assay-Puffer (5940 µl) wurde zugefügt.

Die Wells der 96-Well Filter-Platte wurden mit Assay-Puffer (150 µl/W) angefeuchtet. Der Puffer wurde mit dem Filterplatten-Vakuumerät wieder entfernt. Die Bead-Verdünnung wurde 15-20 sec gevortext und 50 µl/W auf die Mikroplatte gegeben. Diese Verdünnung enthielt kovalent an farbkodierte 5,5 µm polystyrene Beads gebundene Antikörper, die spezifisch gegen Zytokine gerichtet sind. Der Puffer dieser Verdünnung wurde durch Vakuum-Filtration entfernt. Anschließend fanden zwei Waschvorgänge mit je 100 µl Waschpuffer statt. Die Standard- und Serumproben-Verdünnungen wurden in die Wells (50 µl/W) gegeben.

Es folgte eine 30-minütige lichtabsente Inkubation auf dem Mikroplatten-Schüttler (300 rpm, RT), wobei die Zytokine aus Serumproben/Standards durch Antikörper gebunden wurden. Der Puffer wurde durch Vakuum-Filtration entfernt, anschließend fanden drei Waschvorgänge mit je 100 µl Waschpuffer statt. Die Detektions-Antikörper (25 µl/W) wurden zugegeben, die während einer 30-minütigen lichtabsenten Inkubation (300 rpm, RT) an Zytokine banden. Nach Vakuumfiltration und drei Waschvorgängen (je 100 µl Waschpuffer) wurde in jedes Well 50 µl Streptavidin-PE Verdünnung gegeben. Eine 10-minütige lichtabsente Inkubation (300 rpm, RT) folgte. Anschließend wurden Vakuumfiltration und drei Waschvorgänge durchgeführt, die Beads in den Wells mit je 125 µl Bio-Plex Assay-Puffer resuspendiert und für 30 Sekunden bei 1100 rpm auf dem Mikroplatten-Schüttler inkubiert.

Anschließend fand der Lesevorgang statt und ermittelte durch Bead-Farben und Immunfluoreszenz sowohl Qualität als auch Quantität der Zytokine. (Abb. 3)

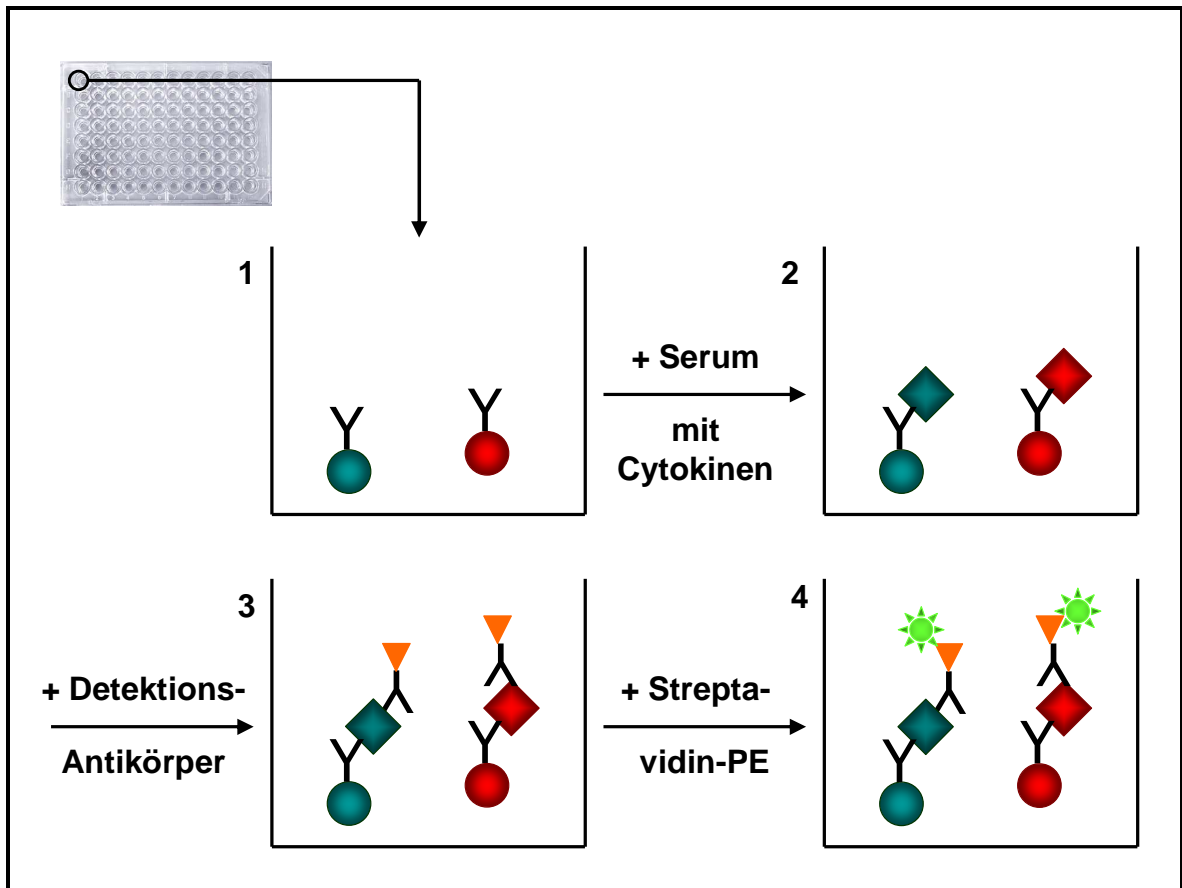


Abb. 3: Zytokin-Assay: 1) Erstantikörper, die an farbcodierte Beads (für jedes Zytokin eine Farbe) gekoppelt sind; 2) Zytokine aus Serum binden an Erstantikörper; 3) Biotinylierte Detektionsantikörper binden Zytokine; 4) Zugabe von Streptavidin-Phycoerythrin bewirkt Immunfluoreszenz

2.3 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. R.W. Holl, Abteilung Epidemiologie, Universität Ulm, unter Verwendung des Programms SAS® (Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Da keine Normalverteilung der Werte vorlag, wurden in den Ergebnissen als Parameter der Median, sowie das erste und dritte Quartil verwendet.

Als Signifikanzniveaus wurden zwei Stufen festgelegt:

- p-Werte < 0,05 niedrig signifikant
- p-Werte < 0,001 signifikant.

Es wurde der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient verwendet, um mögliche Korrelationen zwischen den GAD65-Autoantikörperprofilen und den Zytokinprofilen der Testseren zu untersuchen. Die Nullhypothese lautete, dass es keine Korrelation gibt. Generell kann der Koeffizient Werte von -1 bis +1 annehmen. Werte bei +1 weisen auf eine positive Korrelation hin, Werte bei -1 auf eine negative Korrelation. Werte um 0 schließen eine Korrelation nahezu aus.

Der Wilcoxon-Test fand Anwendung in der Beurteilung eventueller Geschlechtsunterschiede der Ergebnisse.

Multivariate statistische Verfahren wurden angewandt, um die mehrdimensionale Datenvielfalt vereinfacht darzustellen. Hier wurden unter anderem die Hauptkomponentenanalyse und die Faktorenanalyse durchgeführt. Diese sind Hypothesen generierende Verfahren, die multiple Variablen auf wenige sog. Hauptkomponenten bzw. Faktoren reduzieren. Bei der Hauptkomponentenanalyse werden Hauptkomponenten als Linearkombinationen aus den vorhandenen Variablen bestimmt. Bei der Faktorenanalyse werden die Variablen als Linearkombinationen der Faktoren beschrieben.

Die graphische Darstellung der Daten wurde mit MS Excel XP (Microsoft, Berlin, Deutschland) vorgenommen.

Die Ergebnisse wurden im Text zur Verbesserung der Übersichtlichkeit auf ein bis drei Dezimalstellen gerundet angegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Probanden

Es wurden 242 Seren von T1D Patienten untersucht. Von diesen sind 87 Patienten männlich, 150 Patienten weiblich und bei 5 Patienten ist das Geschlecht nicht in den Daten belegt worden (Abb. 4). Diese 5 Patienten wurden von den weiteren Auswertungen ausgeschlossen, so dass wir auf eine Gesamtzahl von 237 Patienten kommen.

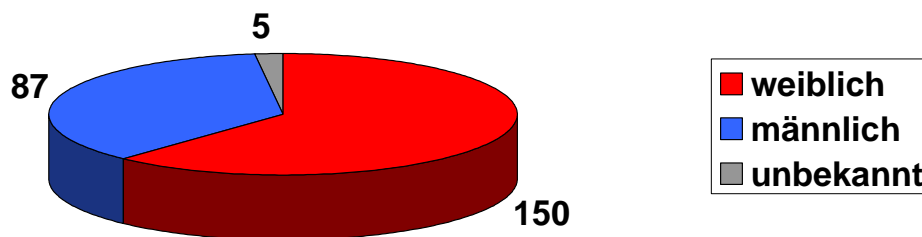


Abb. 4: Geschlechtsverteilung der Probanden

Das Alter der Probanden bei Probeentnahme reichte von 6 Jahren bis 79 Jahren. Das durchschnittliche Alter bei Probenentnahme war $41,1 \pm 16,5$ Jahre. Das durchschnittliche Alter bei Manifestation des T1D lag bei $39,5 \pm 15,8$ Jahren. Somit ergibt sich eine mittlere Diabetesdauer bei Probeentnahme von $1,6 \pm 3,5$ Jahren. Bei 151 Probanden fand die Probeentnahme zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation statt; bei 86 Probanden zu einem späteren Zeitpunkt nach Manifestation der Erkrankung.

3.2 GAD65-Antikörper

3.2.1 Deskriptive Statistik

Die GAD65-Antikörper wurden jeweils allgemein im Radioimmunoassay und speziell nach Immunglobulin G-Subklassen (IgG_{gesamt}, IgG1 und IgG4) mittels ELISA bestimmt.

Radioimmunoassay

Die GAD65-Antikörpertiter, die mittels RIA bestimmt wurden, reichten bei den T1D-Patienten von 31 U/ml bis 166 U/ml. Der mediane GADA-Titer lag bei 65,0 U/ml (1.Quartil: 51,0 U/ml; 3.Quartil: 83,0 U/ml) (Abb. 5).

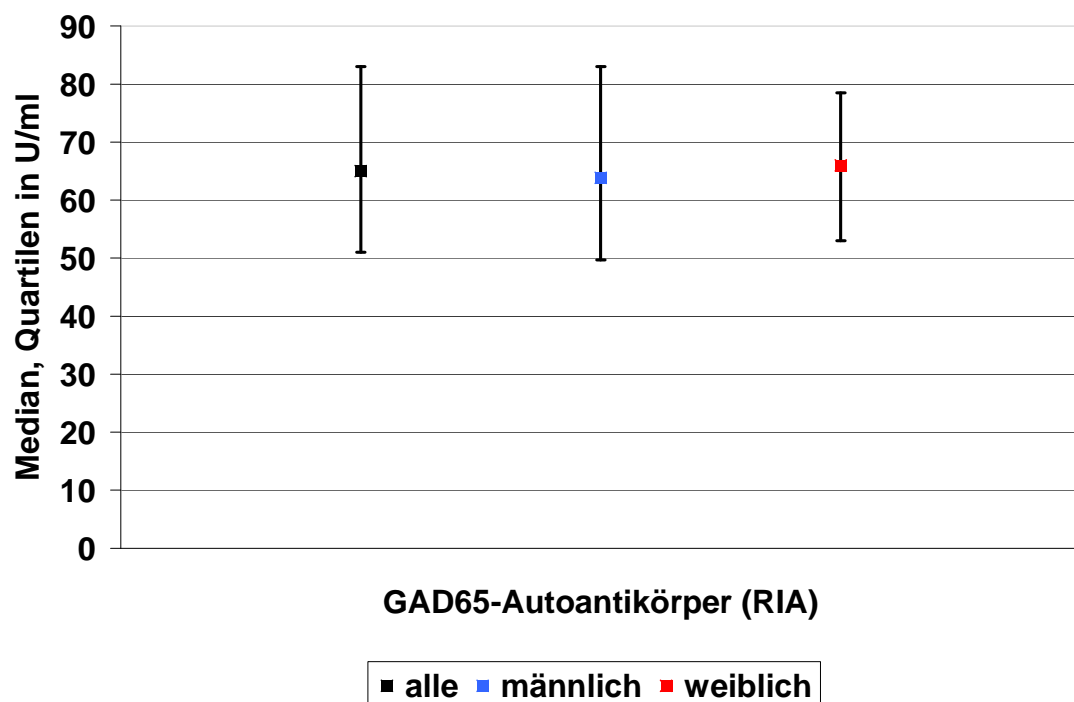


Abb. 5: Median, erstes und drittes Quartil der GAD65-Autoantikörper (detektiert mittels Radioimmunoassay, RIA) aller Patienten, der männlichen und der weiblichen Patienten.

Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay

IgG_{gesamt}:

Der GAD65-Antikörper-Titer von IgG_{gesamt} reichte von 1,00 ng/ml bis 1410,00 ng/ml mit einem Median von 80,70 ng/ml (33,16 ng/ml; 339,63 ng/ml). (Abb. 6).

Für die GAD65-Antikörper-Subklassen IgG1 und IgG4 konnten keine absoluten Werte ermittelt werden, da die im ELISA verwendeten Standardwerte nur auf IgG_{gesamt} ausgelegt waren. Daher werden im Weiteren GAD65-Antikörper-Titer von IgG1 und IgG4 in der Einheit Ulm-Units (UU) angegeben.

IgG1:

Die Werte von GADA der Subklasse IgG1 reichten von 1,00 UU bis 1410,00 UU. Der Median lag bei 5,33 UU (2,37 UU; 38,56 UU). (Abb. 6).

IgG4:

Die IgG4-Subklasse der GADA nahm Werte von 1,00 UU bis 1059,79 UU an; mit einem Median von 17,60 UU (10,13 UU; 26,74 UU) (Abb. 6).

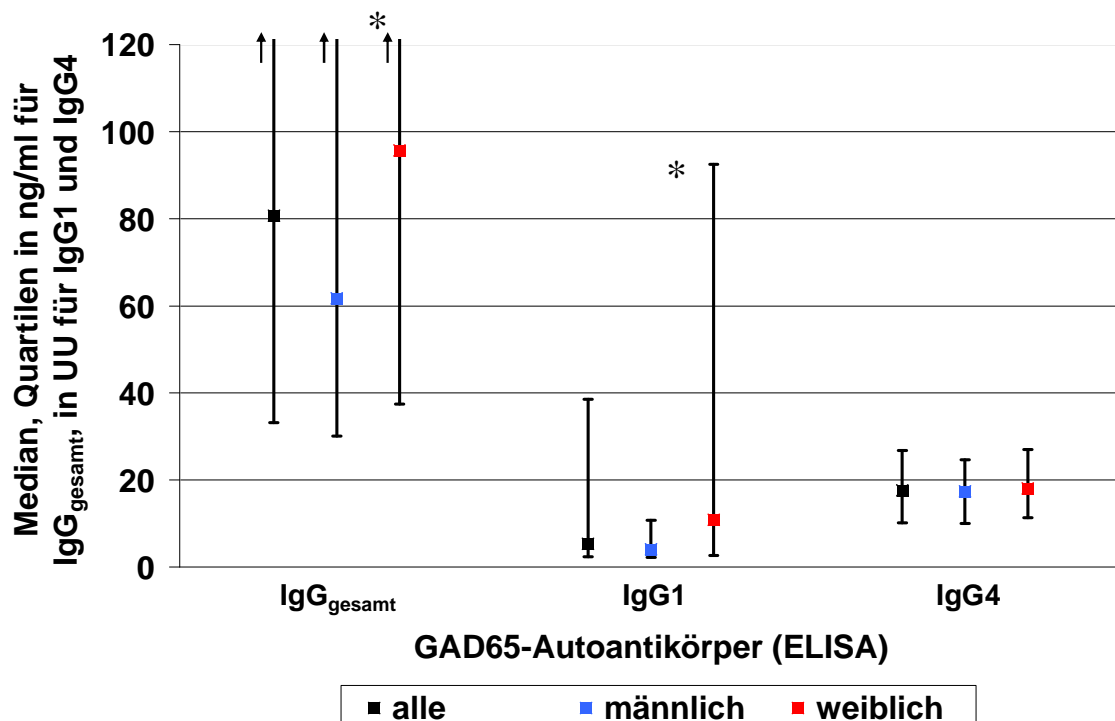


Abb. 6: Median, erstes und drittes Quartil der GAD65-Autoantikörper IgG_{gesamt}, IgG1 und IgG4 (detektiert mittels Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA) für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten (*: p<0,05)
(Werte mit Pfeil ↑ liegen außerhalb des dargestellten Datenbereichs).
UU = Ulm Units (arbiträre Einheit)

Korrelation GAD65 ELISA mit RIA

Korrelation GADA-IgG_{gesamt} (ELISA) mit GADA (RIA):

Der Spearman Korrelationskoeffizient (r) der Korrelation von GADA IgG_{gesamt} (ELISA) und GADA (RIA) lag für alle Patienten gemeinsam ($n=237$) bei $r=0,482$ ($p<0,0001$), für männliche Patienten bei $r=0,504$ ($p<0,0001$) und für weibliche Patienten bei $r=0,471$ ($p<0,0001$). Teilt man das Probandenkollektiv in zwei Altersgruppen mit der Grenze von 40 Jahren so ergab sich für Patienten unter 40 Jahren ein Korrelationskoeffizient von $r=0,574$ ($p<0,0001$) und für über 40-Jährigen Probanden ein Koeffizient von $r=0,378$ ($p<0,0001$). Betrachtet man lediglich die Patienten, bei denen die GADA-Bestimmung zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation stattfand, so zeigte sich ein Korrelationskoeffizient von $r=0,504$ ($p<0,0001$). Abb. 7 zeigt die bivariate Darstellung der Ergebnisse.

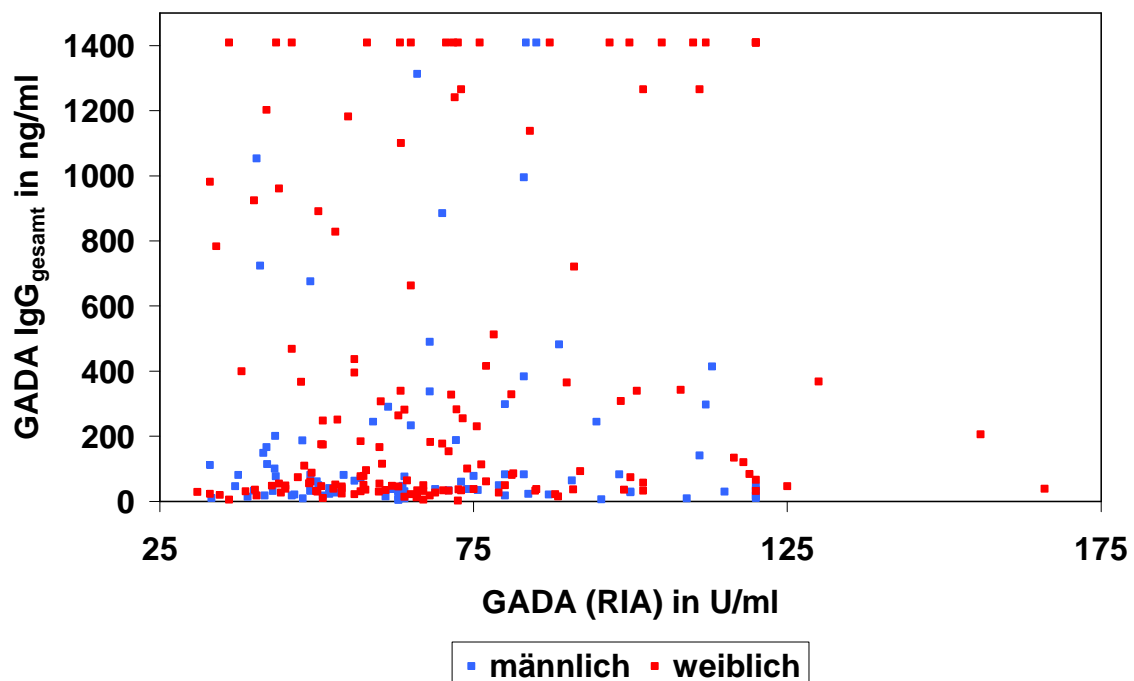


Abb. 7: Bivariate Darstellung:
GAD65-Autoantikörper (GADA) IgG_{gesamt} (Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA)
und GAD65-Autoantikörper (Radioimmunoassay, RIA)

Korrelation GADA-IgG1 (ELISA) mit GADA (RIA):

Bei der Korrelationsanalyse von GADA IgG1 (ELISA) zu GADA (RIA) lag der Spearman-Korrelationskoeffizient für alle Patienten gemeinsam bei $r=0,534$ ($p<0,0001$). Für das männliche Patientenkollektiv ergab sich ein Koeffizient von $r=0,520$ ($p<0,0001$) und für das weibliche Patientenkollektiv ein Koeffizient von $r=0,535$ ($p<0,0001$). Bei Patienten unter 40 Jahre lag der Korrelationskoeffizient bei $r=0,584$ ($p<0,0001$), bei Patienten über 40 Jahren bei $r=0,488$ ($p<0,0001$). Für Patienten, bei denen die GADA-Bestimmung bei T1D-Manifestation erfolgte, ergab sich ein Spearman-Korrelationskoeffizient von $r=0,562$ ($p<0,0001$). Eine Übersicht der Ergebnisse gibt Abb. 8.

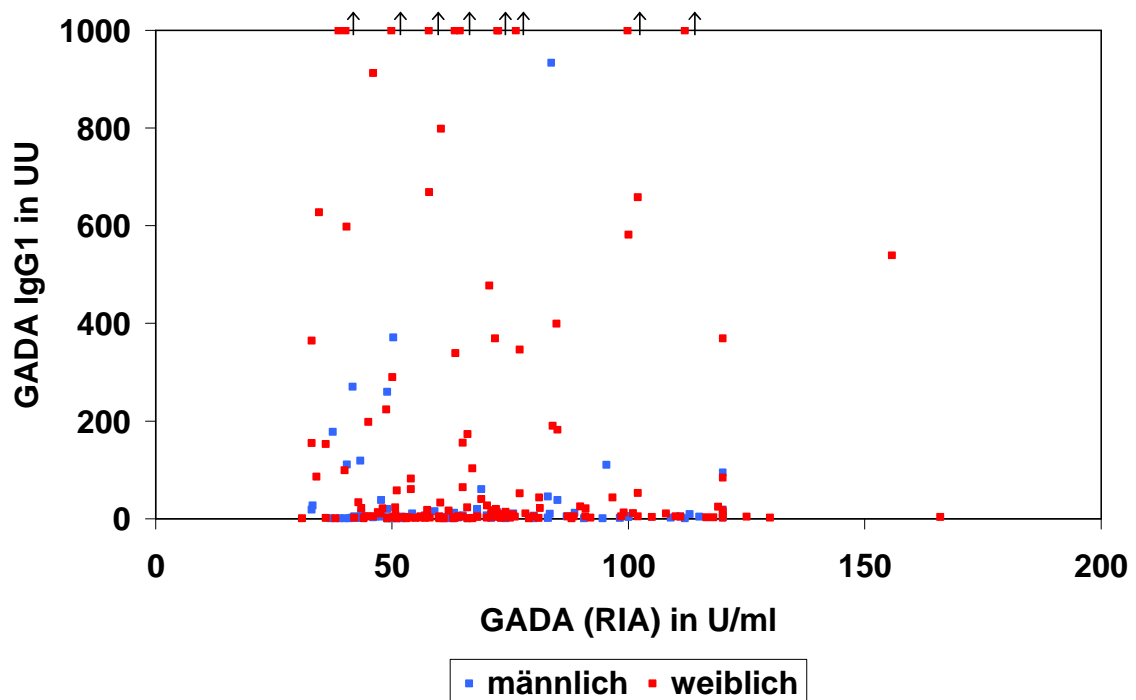


Abb. 8: Bivariate Darstellung:
 GAD65-Autoantikörper (GADA) IgG1 (Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA) und
 GAD65-Autoantikörper (Radioimmunoassay, RIA)
 (Werte mit Pfeil ↑ liegen außerhalb des dargestellten Datenbereichs)
 UU = UIm Units (arbiträre Einheit)

Korrelation GADA-IgG4 (ELISA) mit GADA (RIA):

Es konnten keinerlei Korrelation zwischen den GADA-IgG4 im ELISA und den GADA-Titern im RIA für alle Proben gemeinsam, die männlichen und weiblichen Probandenkollektive, die Patientengruppe unter 40 Jahren und bei Betrachtung der Patienten mit GADA-Bestimmung bei T1D-Manifestation festgestellt werden. Bei der T1D-Patientengruppe über 40 Jahren ergab sich ein Spearman-Korrelationskoeffizient von $r = -0,220$ bei lediglich niedriger Signifikanz ($p = 0,0162$) (Abb. 9).

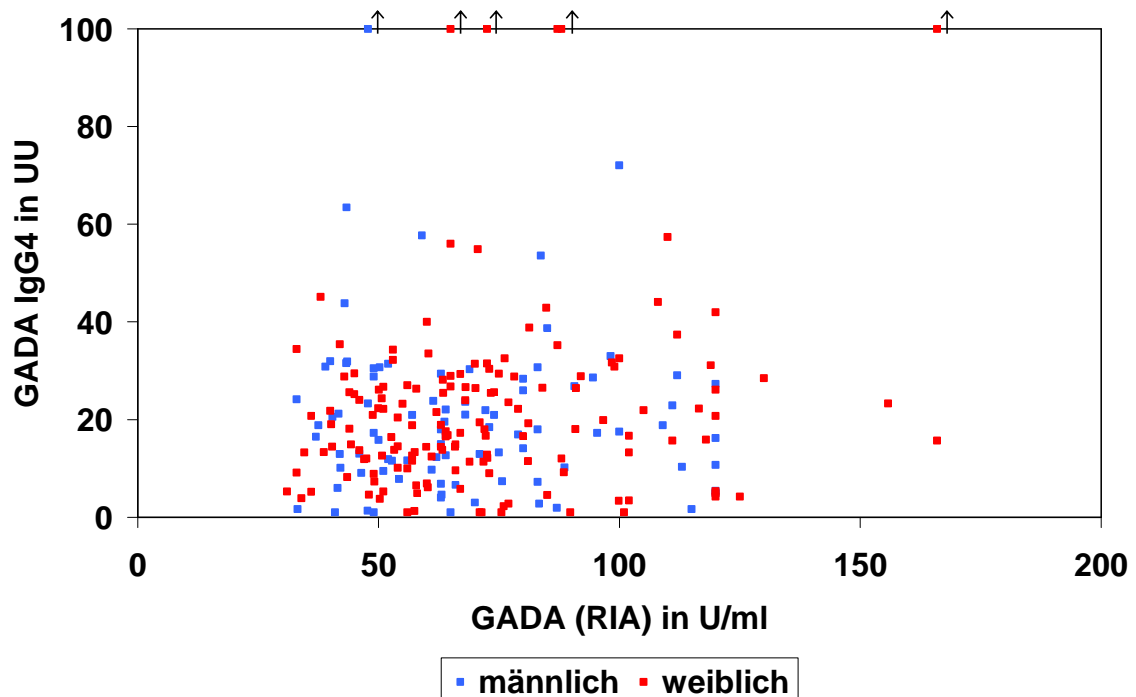


Abb. 9: Bivariate Darstellung:
 GAD65-Autoantikörper (GADA) IgG4 (Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA) und
 GAD65-Autoantikörper (Radioimmunoassay, RIA)
 (Werte mit Pfeil ↑ liegen außerhalb des dargestellten Datenbereichs)
 UU = Ulm Units (arbiträre Einheit)

3.2.3 Korrelation RIA und GAD65 ELISA mit T1D-Manifestationsalter

Es wurden ausschließlich Patienten bewertet, bei denen der GADA-Titer zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation bestimmt wurde (n=151).

Korrelation GADA (RIA) mit Alter bei T1D-Manifestation:

Es ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den GAD-Antikörpertitern, die durch RIA bestimmt wurden, und dem Alter bei T1D-Manifestation (Abb. 10).

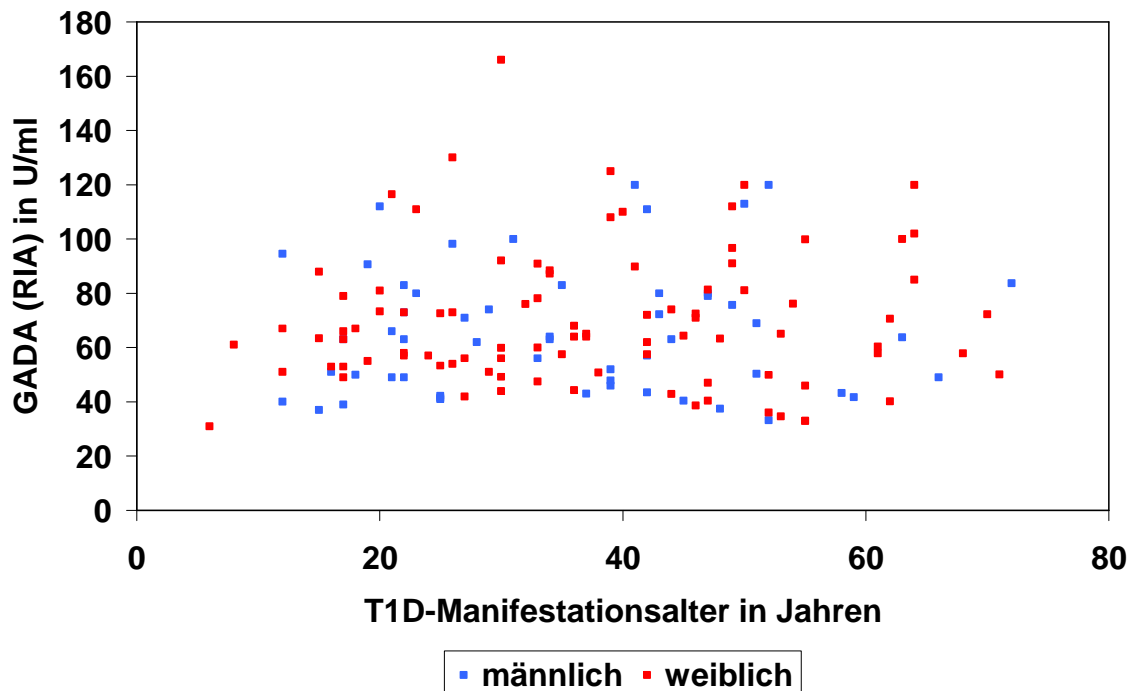


Abb. 10: Bivariate Darstellung:
GAD65-Autoantikörper (GADA) (detektiert mittels Radioimmunoassay, RIA) und Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D)

Korrelation GADA IgG_{gesamt} (ELISA) mit Alter bei T1D-Manifestation:

Bei den über 40-jährigen Patienten ergab sich für die Korrelations von GAD65-Autoantikörper IgG_{gesamt} (ELISA) mit dem Alter bei T1D-Manifestation ein Spearman-Korrelationskoeffizient $r = 0,240$ bei niedriger Signifikanz ($p=0,0453$).

Bei Untersuchung aller Patienten, bei der alleinigen Betrachtung der männlichen bzw. weiblichen Patienten und bei der Altersgruppe der unter 40-jährigen Patienten konnten keine Korrelationen zwischen GAD65-Autoantikörper IgG_{gesamt} (ELISA) und dem Alter bei T1D-Manifestation nachgewiesen werden (Abb. 11).

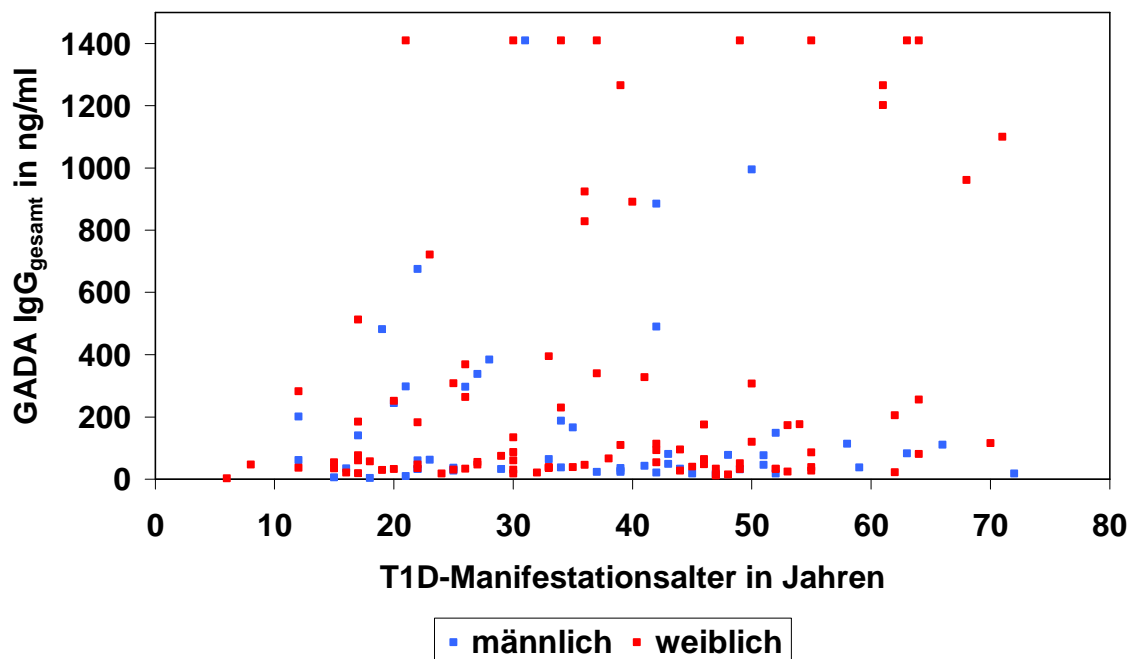


Abb. 11: Bivariate Darstellung:

GAD65-Autoantikörper (GADA) IgG_{gesamt} (detektiert mittels Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA) und Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D)

Korrelation GADA-IgG1 (ELISA) mit Alter bei T1D-Manifestation:

Betrachtet man alle Patienten mit GADA-Bestimmung bei T1D-Manifestation, so ergab sich ein Spearman-Korrelationskoeffizient von $r=0,159$ bei niedriger Signifikanz ($p=0,0476$). Bei dem weiblichen Probandenkollektiv lag der Korrelationskoeffizient bei $r=0,289$ ($p=0,0108$) und bei den Patienten über 40 Jahre bei $r=0,236$ ($p=0,0495$). Bei den männlichen Probanden und bei dem Probandenkollektiv jünger als 40 Jahre konnten keine signifikanten Korrelationen gefunden werden (Abb. 12).

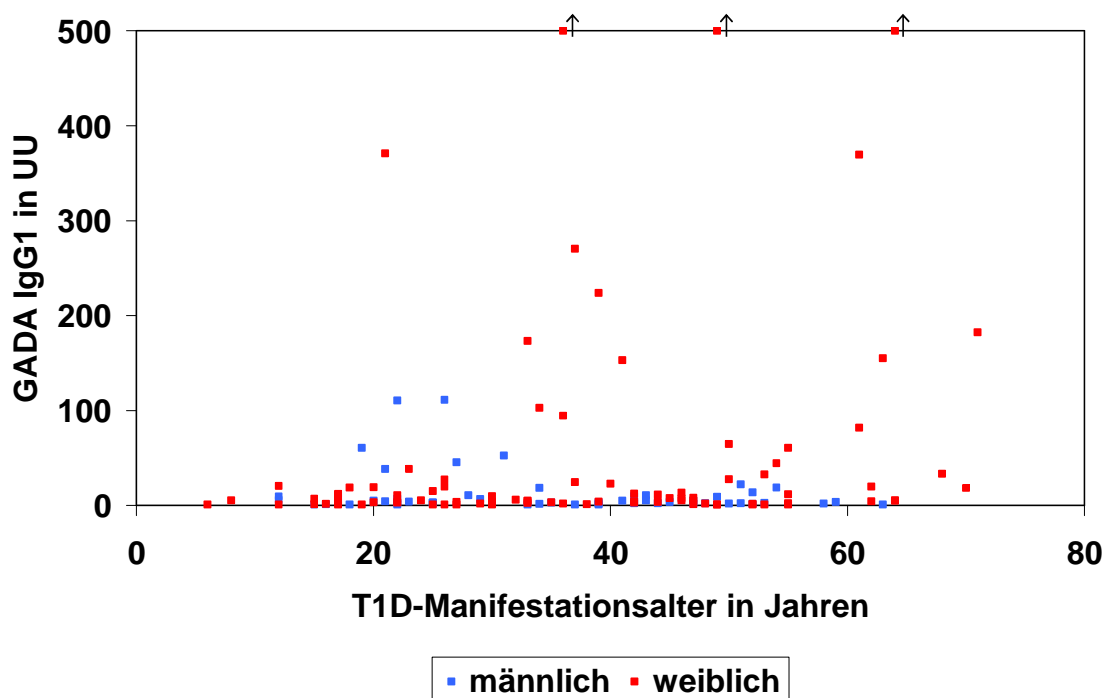


Abb. 12: Bivariate Darstellung:
 GAD65-Autoantikörper (GADA) IgG1 (detektiert mittels Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA) und Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D)
 (Werte mit Pfeil ↑ liegen außerhalb des dargestellten Datenbereichs)
 UU = Ulm Units (arbiträre Einheit)

Korrelation GADA-IgG4 (ELISA) mit Alter bei T1D-Manifestation:

Für GADA-IgG4 ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Alter bei T1D-Manifestation (Abb. 13).

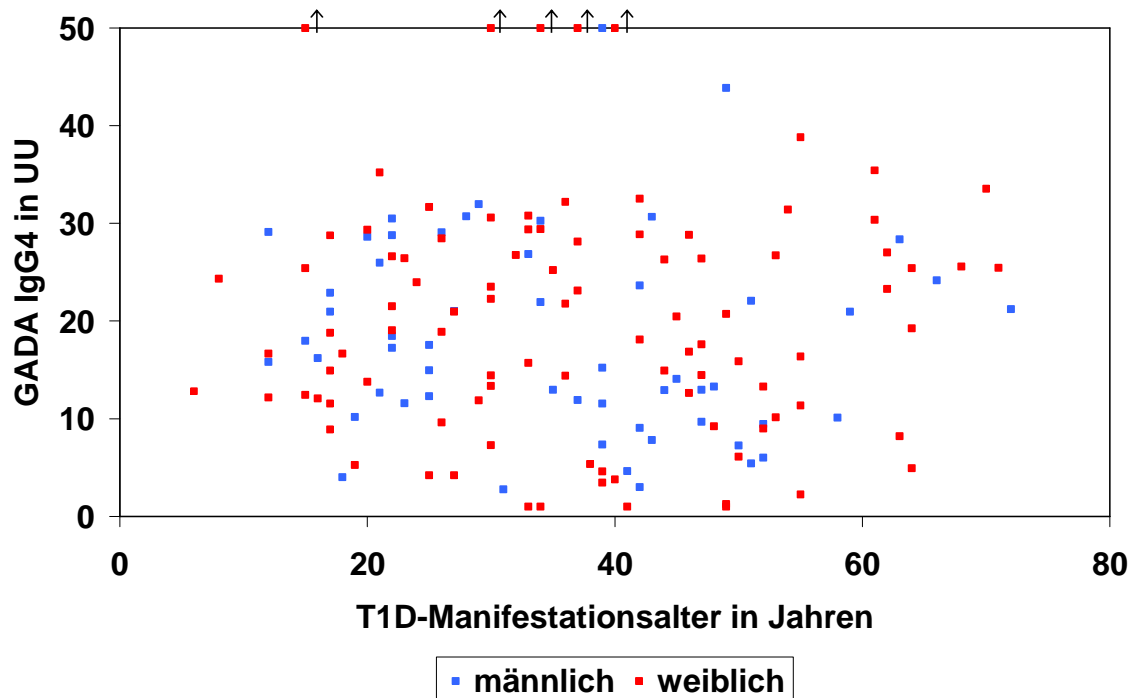


Abb. 13: Bivariate Darstellung:
GAD65-Autoantikörper (GADA) IgG4 (detektiert mittels Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA) und Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D)
(Werte mit Pfeil ↑ liegen außerhalb des dargestellten Datenbereichs).
UU = Ulm Units (arbiträre Einheit)

3.3 Zytokine

3.3.1 Deskriptive Statistik

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse des Zytokin-Assays. Es wurden für alle gemessenen Zytokine jeweils das Minimum und Maximum, der Median und das erste und dritte Quartil des gesamten Probandenkollektivs (n=237) ermittelt. Die Referenzwerte der Zytokine ergaben sich aus gesunden Kontrollpersonen (n=4), deren Zytokintiter zusätzlich im Rahmen des Zytokin-Assays bestimmt wurden.

Tab. 5: Zytokinwerte: Minimum, Maximum, Median, erstes und drittes Quartil und Referenzwerte (Min-Max; Median).
 GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon γ , TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin, Min = Minimum, Max = Maximum

	Minimum	Maximum	Median	1.Quartil	3.Quartil	Referenzwert (Min-Max; Median)
in pg/ml						
GM-CSF	0,001	5723,84	0,001	0,001	2,96	0,001; 0,001
G-CSF	0,001	2537,33	4,30	0,90	8,74	0,001; 0,001
IFN-γ	0,001	5586,25	0,001	0,001	7,79	0,001; 0,001
TNF-α	0,001	814,07	0,60	0,001	1,49	0,001-1,02; 0,46
MCP-1	35,67	40000,00	146,30	107,62	207,10	29,97-84,36; 55,78
MIP-1β	17,78	40000,00	83,55	63,28	112,05	66,87-129,52; 81,83
IL-1β	0,001	40000,00	0,41	0,08	1,31	0,001; 0,001
IL-2	0,001	1347,74	0,001	0,001	4,71	0,001; 0,001
IL-4	0,001	418,01	0,001	0,001	0,94	0,001; 0,001
IL-5	0,001	28,28	0,59	0,33	0,90	0,10-0,77; 0,14
IL-6	1,62	40000,00	34,41	23,43	79,69	0,68-15,86; 9,71
IL-7	1,96	130,78	9,35	6,23	12,90	3,55-7,33; 4,52
IL-8	0,001	40000,00	9,33	6,92	12,93	4,48-8,67; 5,26
IL-10	0,001	362,33	2,66	1,51	4,74	0,001-2,22; 0,48
IL-12	0,001	1154,88	0,001	0,001	1,00	0,001; 0,001
IL-13	0,001	551,40	1,25	0,49	2,95	0,001-0,99; 0,14
IL-17	0,001	681,89	0,001	0,001	1,96	0,001; 0,001

Um ein detailliertes Resultat zu erhalten, wurden die Ergebnisse innerhalb verschiedener Kollektive (alle Probanden, männliche Probanden, weibliche Probanden) untersucht.

In Abb. 14-16 sind die medianen Zytokinspiegel sowie erstes und drittes Quartil dieser Probandenkollektive dargestellt.

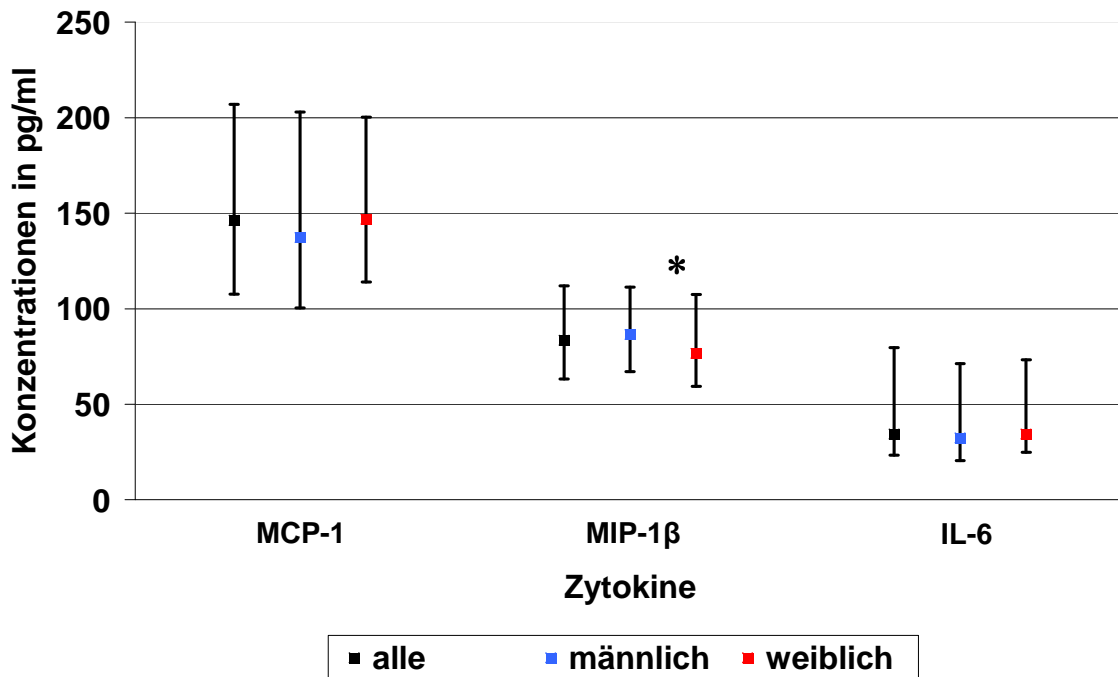


Abb. 14: Mediane Zytokinspiegel, erstes und drittes Quartil von MCP-1, MIP-1β und IL-6 für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten (*: $p < 0,05$).
MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β, IL = Interleukin

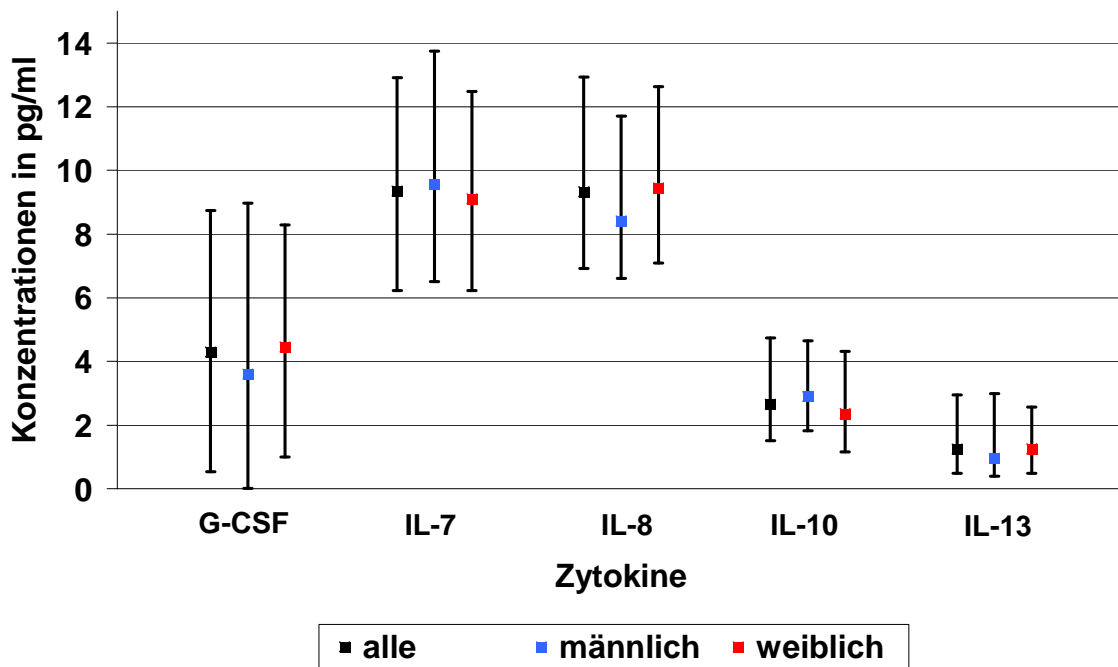


Abb. 15: Mediane Zytokinspiegel, erstes und drittes Quartil von G-CSF, IL-7, IL-8, IL-10 und IL-13 für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten.
G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IL = Interleukin

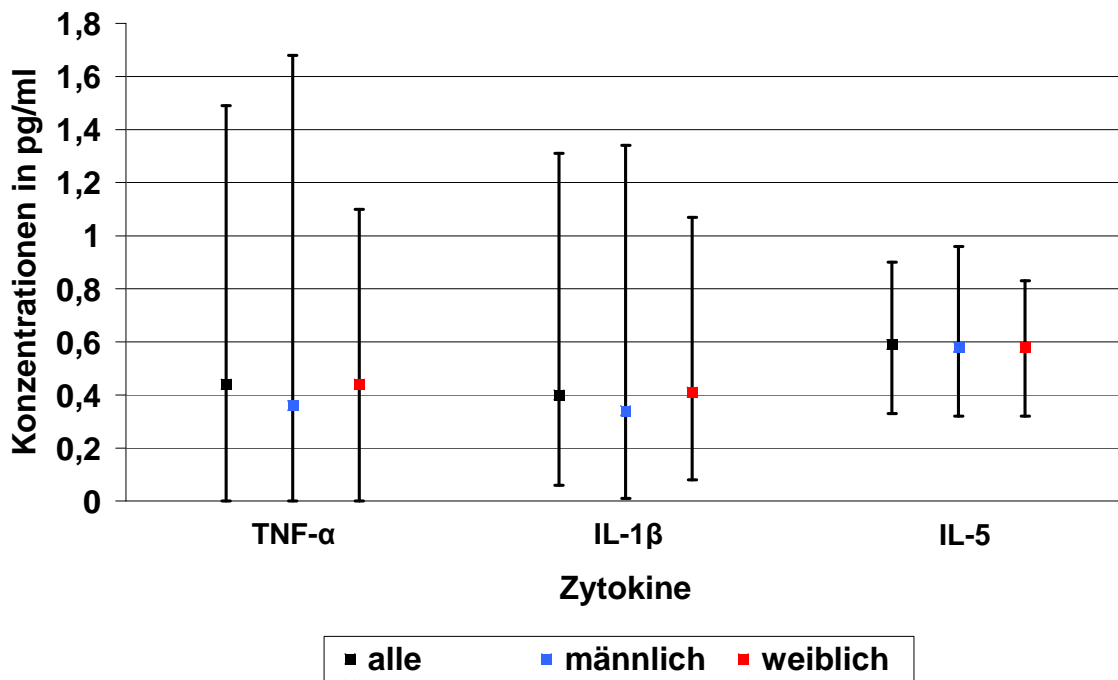


Abb. 16: Mediane Zytokinspiegel, erstes und drittes Quartil von TNF- α , IL-1 β und IL-5 für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten.
TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , IL = Interleukin

Die medianen Zytokinspiegel von IL-4, IL-12, IL-17, IL-2, GM-CSF und IFN- γ lagen für alle Patienten, als auch für das männliche und weibliche Patientenkollektiv bei 0,001 pg/ml.

3.3.2 Korrelation Zytokine mit T1D-Manifestationalter und Geschlecht

Wird das gesamte T1D-Patientenkollektiv (n=237) betrachtet, so ergaben sich für TNF- α , MCP-1, IL-4, IL-5, IL-8 und IL-17 signifikant positive Korrelationen zwischen den Zytokinspiegel und dem Alter bei T1D-Manifestation. Für GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , MIP-1 β , IL-1 β , IL-6, IL-12 und IL13 konnten niedrig-signifikante Korrelationen gezeigt werden. Für die Zytokine GM-CSF, IFN- γ , IL-7, IL-10 und IL-13 konnten keine signifikanten Korrelationen mit dem Alter bei T1D-Manifestation nachgewiesen werden. (Tab. 6)

Tab. 6: Korrelation Zytokine mit Alter bei T1D-Manifestation – alle T1D-Patienten.

Fett gedruckt: signifikante Korrelation, normal gedruckt: niedrig-signifikante Korrelation, schwach gedruckt: keine Korrelation.

GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon gamma, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

	Spearman Korrelationskoeffizient	p-Wert
GM-CSF	0,117	0,066
G-CSF	0,194	0,002
IFN- γ	0,092	0,150
TNF-α	0,286	<0,0001
MCP-1	0,292	<0,0001
MIP-1 β	0,235	0,0002
IL-1 β	0,160	0,012
IL-2	-0,135	0,034
IL-4	0,253	<0,0001
IL-5	0,259	<0,0001
IL-6	0,231	0,0002
IL-7	-0,125	0,050
IL-8	0,287	<0,0001
IL-10	-0,010	0,876
IL-12	0,196	0,002
IL-13	0,027	0,670
IL-17	0,315	<0,0001

Bei alleiniger Betrachtung der Patienten, bei denen die Zytokinbestimmung zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation stattfand (n=151), ergaben sich stärkere Korrelationen als bei der Betrachtung aller Patienten. So zeigten sich für TNF- α , MCP-1, MIP-1 β , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12 und IL-17 signifikant positive Korrelationen zwischen den Zytokinspiegeln und dem Alter bei T1D-Manifestation. Für GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , IL-7 und IL-13 ergaben sich niedrig-signifikante Korrelationen. Für IL-2 und IL-10 ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zum Manifestationsalter des T1D. (Tab. 7)

Tab. 7: Korrelation Zytokine mit Alter bei T1D-Manifestation – Patienten mit Zytokinbestimmung bei T1D-Manifestation.

Fett gedruckt: signifikante Korrelation, normal gedruckt: niedrig-signifikante Korrelation, schwach gedruckt: keine Korrelation.

GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon gamma, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

	Spearman Korrelationskoeffizient	p-Wert
GM-CSF	0,232	0,003
G-CSF	0,285	0,0003
IFN- γ	0,283	0,0003
TNF-α	0,421	<0,0001
MCP-1	0,374	<0,0001
MIP-1β	0,356	<0,0001
IL-1β	0,326	<0,0001
IL-2	-0,001	0,990
IL-4	0,394	<0,0001
IL-5	0,316	<0,0001
IL-6	0,322	<0,0001
IL-7	-0,176	0,027
IL-8	0,362	<0,0001
IL-10	0,055	0,493
IL-12	0,328	<0,0001
IL-13	0,188	0,018
IL-17	0,434	<0,0001

In Abb. 17-20 sind die Korrelationen zwischen den Zytokinspiegeln und dem T1D-Manifestationsalter dargestellt. In diesen Korrelationsplots wurden alle Probanden (n=237) beachtet.

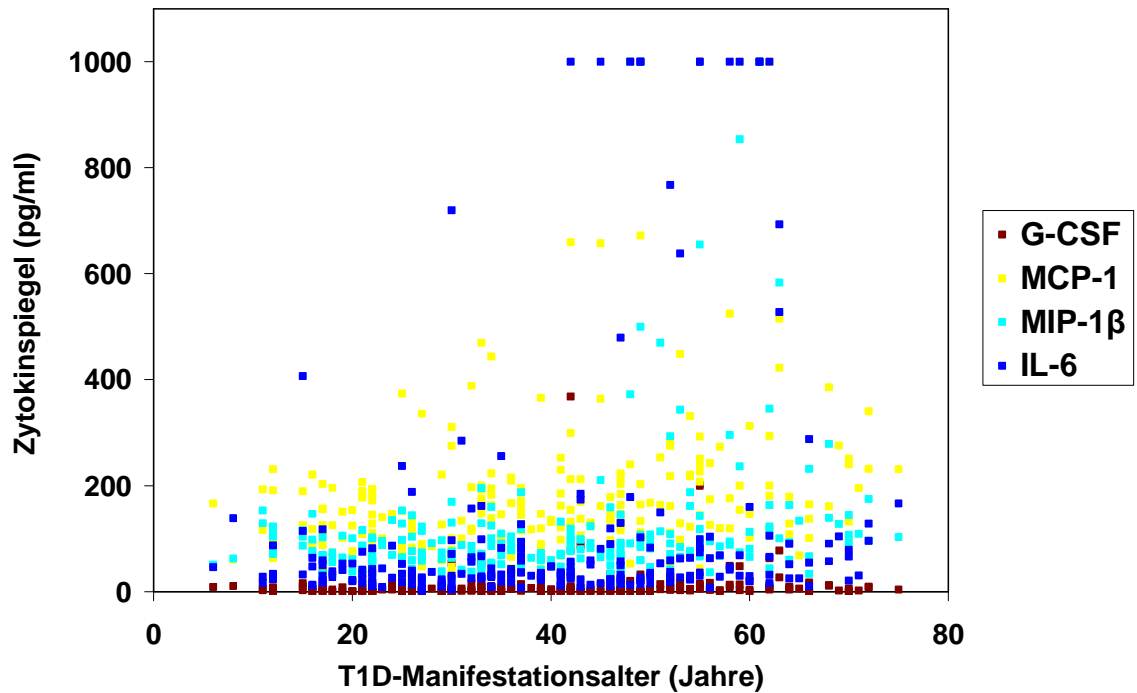


Abb. 17: Korrelationsplot Zytokinspiegel mit Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D):
 G-CSF, MCP-1, MIP-1 β und IL-6
 G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

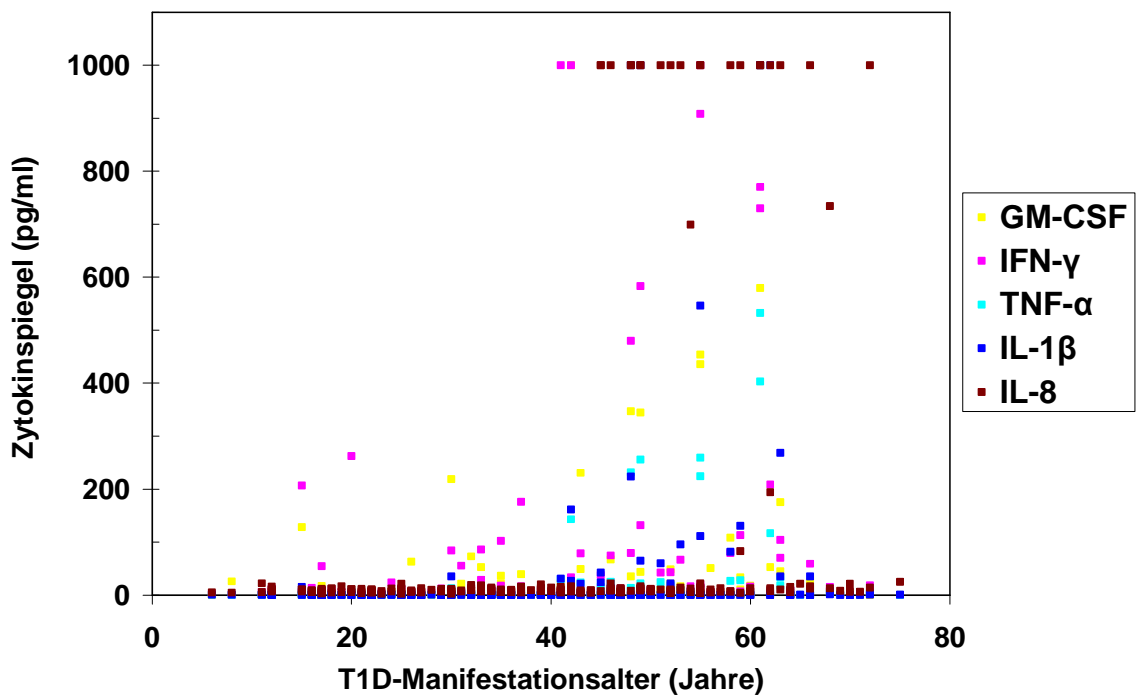


Abb. 18: Korrelationsplot Zytokinspiegel mit Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D):
 GM-CSF, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β und IL-8
 GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon gamma, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , IL = Interleukin

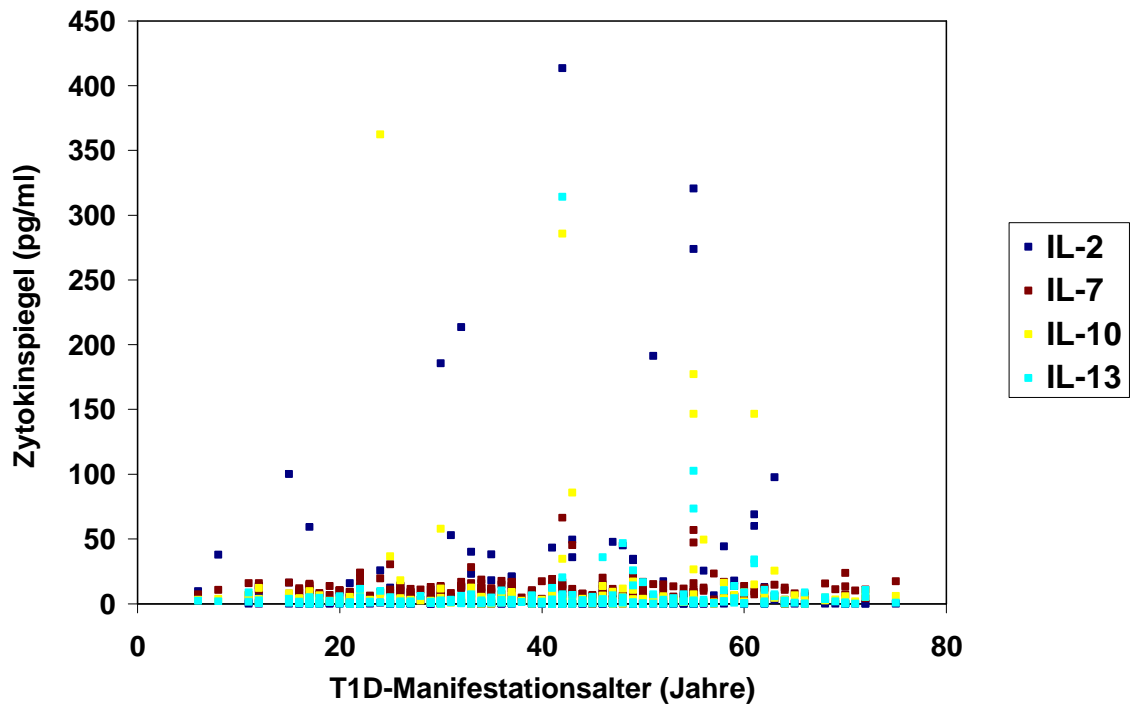


Abb. 19: Korrelationsplot Zytokinspiegel mit Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D):
IL-2, IL-7, IL-10 und IL-13
IL = Interleukin

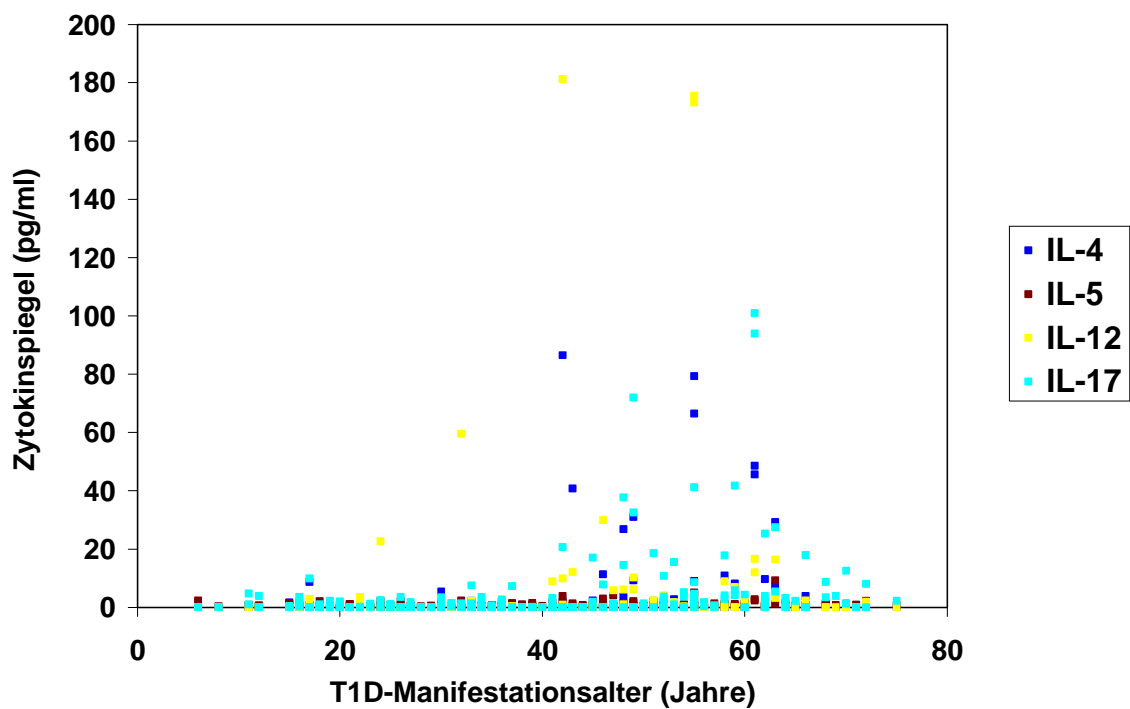


Abb. 20: Korrelationsplot Zytokinspiegel mit Manifestationsalter des Typ 1 Diabetes (T1D):
IL-4, IL-5, IL-12 und IL-17
IL = Interleukin

Den Zusammenhang Zytokine und Geschlecht betreffend ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.3 Korrelation der Zytokine untereinander

Aus der Korrelationsanalyse der Zytokine untereinander zeigten sich Zusammenhänge bestimmter Zytokinmuster. Es ergaben sich signifikant positive Korrelationen zwischen den Zytokinen IFN- γ , TNF- α und IL-1 β . Diese Korrelationen konnten bei Betrachtung aller Probanden (n=237) nachgewiesen werden (Tab. 8). Bei alleiniger Betrachtung der Probanden mit Zytokinbestimmung zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation (n=151) konnten diese auch biologisch plausible Assoziation verstärkt beobachtet werden (Tab. 9).

Tab. 8: Korrelation der Zytokine untereinander für alle T1D-Patienten

GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon γ , TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

	GM-CSF	G-CSF	IFN- γ	TNF- α	MCP-1	MIP-1 β	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12	IL-13	IL-17
GM-CSF		0,613	0,647	0,650	0,258	0,345	0,672	0,632	0,671	0,399	0,627	0,182	0,274	0,455	0,586	0,446	0,456
G-CSF	0,613		0,606	0,650	0,382	0,377	0,716	0,475	0,588	0,533	0,636	0,204	0,337	0,556	0,567	0,527	0,513
IFN- γ	0,647	0,606		0,738	0,326	0,510	0,781	0,535	0,700	0,483	0,601	0,154	0,476	0,520	0,603	0,594	0,516
TNF- α	0,650	0,650	0,738		0,391	0,521	0,723	0,450	0,672	0,490	0,552	0,115	0,371	0,470	0,545	0,592	0,634
MCP-1	0,258	0,382	0,326	0,391		0,318	0,329	0,230*	0,355	0,431	0,373	0,089	0,411	0,285	0,309	0,331	0,483
MIP-1 β	0,345	0,377	0,510	0,521	0,318		0,588	0,152	0,450	0,340	0,368	0,032	0,399	0,353	0,322	0,315	0,603
IL-1 β	0,672	0,716	0,781	0,723	0,329	0,588		0,524	0,667	0,537	0,658	0,113	0,445	0,513	0,560	0,560	0,583
IL-2	0,632	0,475	0,535	0,450	0,230	0,152	0,524		0,457	0,320	0,563	0,181	0,203	0,370	0,467	0,436	0,225
IL-4	0,671	0,588	0,700	0,672	0,355	0,450	0,667	0,457		0,479	0,564	0,082	0,434	0,501	0,691	0,556	0,536
IL-5	0,399	0,533	0,483	0,490	0,431	0,340	0,537	0,320	0,479		0,428	0,121	0,329	0,497	0,523	0,506	0,441
IL-6	0,627	0,636	0,601	0,552	0,373	0,368	0,658	0,563	0,564	0,428		0,134	0,419	0,427	0,474	0,413	0,422
IL-7	0,182	0,204	0,154	0,115	0,089	0,032	0,113	0,181	0,082	0,121	0,134		0,095	0,316	0,159	0,162	0,005
IL-8	0,274	0,337	0,476	0,371	0,411	0,399	0,445	0,203	0,434	0,329	0,419	0,095		0,260	0,357	0,306	0,348
IL-10	0,455	0,556	0,520	0,470	0,285	0,353	0,513	0,370	0,501	0,497	0,427	0,316	0,260		0,514	0,571	0,436
IL-12	0,586	0,567	0,603	0,545	0,309	0,322	0,560	0,467	0,691	0,523	0,474	0,159	0,357	0,514		0,610	0,428
IL-13	0,446	0,527	0,594	0,592	0,331	0,315	0,560	0,436	0,556	0,506	0,413	0,162	0,306	0,571	0,610		0,454
IL-17	0,456	0,513	0,516	0,634	0,483	0,603	0,583	0,225	0,536	0,441	0,421	0,005	0,348	0,436	0,428	0,454	

■
■
■
■

Starke Korrelation (Spearman Korrelationskoeffizient = 1,000 bis 0,750; $p < 0,0001$)

Mittlere Korrelation (Spearman Korrelationskoeffizient = 0,750 bis 0,500; $p < 0,001$)

Schwache Korrelation (Spearman Korrelationskoeffizient $< 0,500$; $p < 0,05$)

Keine Korrelation

Tab. 9: Korrelation der Zytokine untereinander für Patienten mit Zytokinbestimmung bei T1D-Manifestation

GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon γ , TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

	GM-CSF	G-CSF	IFN- γ	TNF- α	MCP-1	MIP-1 β	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12	IL-13	IL-17
GM-CSF		0,657	0,720	0,687	0,353	0,383	0,735	0,701	0,744	0,459	0,694	0,091	0,375	0,502	0,631	0,527	0,521
G-CSF	0,657		0,659	0,665	0,445	0,394	0,767	0,586	0,649	0,637	0,705	0,121	0,378	0,567	0,670	0,612	0,537
IFN- γ	0,720	0,659		0,770	0,414	0,557	0,822	0,602	0,767	0,594	0,648	0,055	0,543	0,548	0,662	0,636	0,576
TNF- α	0,687	0,665	0,770		0,502	0,575	0,768	0,542	0,743	0,568	0,623	-0,007	0,483	0,489	0,623	0,651	0,690
MCP-1	0,353	0,445	0,414	0,502		0,394	0,426	0,275	0,490	0,484	0,449	0,032	0,451	0,393	0,480	0,397	0,571
MIP-1 β	0,383	0,394	0,557	0,575	0,394		0,623	0,229	0,520	0,336	0,437	-0,103	0,469	0,274	0,410	0,315	0,620
IL-1 β	0,735	0,767	0,822	0,768	0,426	0,623		0,606	0,737	0,605	0,703	-0,023	0,496	0,475	0,612	0,585	0,625
IL-2	0,701	0,586	0,602	0,542	0,275	0,229	0,606		0,572	0,476	0,613	0,165	0,223	0,457	0,533	0,529	0,285
IL-4	0,744	0,649	0,767	0,743	0,490	0,520	0,737	0,572		0,534	0,667	0,028	0,497	0,505	0,756	0,639	0,635
IL-5	0,459	0,637	0,594	0,568	0,484	0,336	0,605	0,476	0,534		0,492	0,021	0,371	0,536	0,603	0,627	0,441
IL-6	0,694	0,705	0,648	0,623	0,449	0,437	0,703	0,613	0,667	0,492		0,019	0,450	0,443	0,528	0,501	0,471
IL-7	0,091	0,121	0,055	-0,007	0,032	-0,103	-0,023	0,165	0,028	0,021	0,019		0,008	0,285	0,114	0,079	-0,211
IL-8	0,375	0,378	0,543	0,483	0,451	0,469	0,496	0,223	0,497	0,371	0,450	0,008		0,255	0,410	0,399	0,450
IL-10	0,502	0,567	0,548	0,489	0,393	0,274	0,475	0,458	0,505	0,536	0,443	0,285	0,255		0,592	0,641	0,407
IL-12	0,631	0,670	0,662	0,623	0,480	0,410	0,612	0,533	0,756	0,603	0,528	0,114	0,410	0,592		0,699	0,596
IL-13	0,527	0,612	0,636	0,651	0,397	0,315	0,585	0,529	0,639	0,627	0,501	0,079	0,399	0,641	0,699		0,476
IL-17	0,521	0,537	0,576	0,690	0,571	0,620	0,625	0,285	0,635	0,441	0,471	-0,211	0,450	0,407	0,596	0,476	

	Starke Korrelation (Spearman Korrelationskoeffizient = 1,000 bis 0,750; p < 0,0001)
	Mittlere Korrelation (Spearman Korrelationskoeffizient = 0,750 bis 0,500; p < 0,001)
	Schwache Korrelation (Spearman Korrelationskoeffizient < 0,500; p < 0,05)
	Keine Korrelation

Um die Information, die in der großen Menge dieser unabhängigen Zytokin-Variablen enthalten ist, zu komprimieren wurde eine Hauptkomponenten- und Faktorenanalyse durchgeführt. Dazu wurden möglichst wenige neue Variablen, wir nennen sie Hauptkomponenten bzw. Faktoren, ermittelt, die möglichst viel der Gesamtvarianz der Daten erklären.

Hauptkomponentenanalyse

Die Hauptkomponentenanalyse ist ein Dimensionsreduktionsverfahren. Hierbei werden die multivariaten Daten zu neuen, wichtigen Variablen, sogenannten Hauptkomponenten, zusammengefasst. Die neuen Variablen werden aus den vorhandenen Variablen als Linearkombination bestimmt.

Im vorliegenden Fall wurde eine neue Variable als erste Hauptkomponente geschaffen, die 63,2% der gesamten Variabilität der Daten beschreibt. Eine zweite Hauptkomponente steht senkrecht auf der ersten Variablen und erfasst zusätzlich 22,9% der verbleibenden Variabilität der Daten. Zwei Hauptkomponenten erklären somit 86,1% der Variationen.

Die erste Hauptkomponente korreliert positiv mit allen gemessenen Zytokinen (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF, G-CSF, MCP-1, MIP-1 β). Die zweite Hauptkomponente korreliert teils positiv (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF, MCP-1, MIP-1 β), teils negativ (IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IFN- γ , GM-CSF) (Tab. 10).

Tab.10: Hauptkomponentenanalyse (Korrelationskoeffizienten). Gelb = positive Korrelation mit Hauptkomponente 1, blau = positive Korrelation mit Hauptkomponente 2, hellblau = negative Korrelation mit Hauptkomponente 2
 GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon gamma, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

	Hauptkomponente 1	Hauptkomponente 2
IL-1 β	0,082	0,454
IL-2	0,291	-0,128
IL-4	0,298	-0,096
IL-5	0,287	-0,116
IL-6	0,233	0,282
IL-7	0,274	-0,155
IL-8	0,052	0,314
IL-10	0,191	-0,022
IL-12	0,291	-0,139
IL-13	0,286	-0,122
IL-17	0,292	-0,070
TNF- α	0,296	0,099
IFN- γ	0,296	-0,061
GM-CSF	0,297	-0,090
G-CSF	0,204	0,334
MCP-1	0,076	0,410
MIP-1 β	0,084	0,460

Faktorenanalyse

Die Faktorenanalyse ist wie die Hauptkomponentenanalyse ebenfalls eine Dimensionsreduktionsmethode. Hier wird versucht, die Abhängigkeitsstruktur der Variablen durch wenige Einflussgrößen zu erklären. Diese Einflussgrößen, die meist nicht unmittelbar beobachtbar sind, werden als gemeinsame Faktoren bezeichnet. Im Unterschied zur Hauptkomponentenanalyse wird jede der beobachteten Variablen als Linearkombination der neuen gemeinsamen Faktoren beschrieben.

In der vorliegenden Analyse wurden zwei Faktoren gewählt um die Korrelationen der Variablen zu beschreiben. Faktor 1 ist dabei mit den Zytokinen IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF und G-CSF assoziiert. Faktor 2 ist dagegen nur mit den Zytokinen IL-1 β , IL-6, IL-8, G-CSF, TNF- α , MCP-1 und MIP-1 β in Verbindung zu bringen (Tab. 11).

Tab. 11: Faktorenanalyse (Korrelationskoeffizienten/Faktorenladungen). Gelb = Assoziation mit Faktor 1, blau = Assoziation mit Faktor 2, weiß = keine Assoziation
 GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon gamma, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin

	Faktor 1	Faktor 2
IL-1 β	-0,004	0,923
IL-2	0,983	0,039
IL-4	0,994	0,103
IL-5	0,969	0,054
IL-6	0,569	0,728
IL-7	0,933	-0,016
IL-8	0,007	0,522
IL-10	0,557	0,159
IL-12	0,993	0,015
IL-13	0,960	0,045
IL-17	0,968	0,137
TNF- α	0,869	0,478
IFN- γ	0,959	0,169
GM-CSF	0,987	0,114
G-CSF	0,435	0,852
MCP-1	0,013	0,794
MIP-1 β	-0,004	0,959

3.4 Korrelation der Zytokine mit GAD65-Antikörper

3.4.1 Korrelation der Zytokine mit GADA (RIA), GADA (ELISA) – Bivariater Test

Bei bivariaten Analysen fanden sich geringe Korrelationen von:

- G-CSF mit GADA (RIA): $r = -0,198$ ($p = 0,0124$)
- G-CSF mit GADA IgG1 (ELISA): $r = -0,183$ ($p = 0,0213$)
- IL-5 mit GADA IgG_{gesamt} (ELISA): $r = -0,180$ ($p = 0,0230$).

Für alle anderen Zytokine konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.

3.4.2 Korrelation unterschiedlicher Zytokine mit Geschlecht, Manifestationsalter, Diabetesdauer, GADA (RIA) und GADA (ELISA) – Multivariate Testmodelle

Es sind insgesamt acht Variablen pro Proband vorhanden: Zytokin-Titer, Geschlecht, T1D-Manifestationsalter, Diabetesdauer, GAD65-Antikörper (RIA), GADA IgG_{gesamt} (ELISA), GADA IgG1 (ELISA) und GADA IgG4 (ELISA).

Bei bivariaten (zweidimensionalen) Analysen, bei denen wichtige Parameter wie Alter und Geschlecht nicht beachtet werden, können Zusammenhänge verborgen bleiben oder lediglich andeutungsweise erkannt werden. Deshalb wurden durch die Methode des multivariaten Testens alle oben genannten Variablen gemeinsam analysiert.

Es fanden sich signifikante positive Korrelationen zwischen den Zytokinen GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, IL-17 und GADA IgG_{gesamt} (ELISA), sowie diverse niedrig-signifikante Korrelationen verschiedener Zytokine mit GAD-Autoantikörper. Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der multivariaten Analysen (Zusammenhang Zytokine-GADA).

Tab. 12: Multivariate Modelle – Korrelation der Zytokinspiegel mit GAD-Autoantikörper (GADA (Radioimmunoassay, RIA), GADA IgG_{gesamt} (Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay, ELISA), IgG1 (ELISA), IgG4 (ELISA)).

Fett gedruckt: signifikante Korrelation, normal gedruckt: niedrig-signifikante Korrelation, schwach gedruckt: keine Korrelation.

GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor, IFN- γ = Interferon gamma, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor α , MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, MIP-1 β = Makrophagen Inflammatorisches Protein 1 β , IL = Interleukin, GADA = Glutamatdecarboxylase-Autoantikörper, Ig = Immunglobulin

	Parameter							
	GADA (RIA)		GADA IgG _{gesamt} (ELISA)		GADA IgG1 (ELISA)		GADA IgG4 (ELISA)	
	t-Wert	p-Wert	t-Wert	p-Wert	t-Wert	p-Wert	t-Wert	p-Wert
GM-CSF	-1,69	0,092	4,51	<0,0001	-2,03	0,044	0,15	0,885
G-CSF	-2,22	0,028	4,73	<0,0001	-2,26	0,025	0,22	0,829
IFN-γ	-1,46	0,145	4,21	<0,0001	-1,98	0,049	0,05	0,964
TNF-α	-2,28	0,023	5,06	<0,0001	-2,32	0,021	0,17	0,862
MCP-1	-1,91	0,057	3,78	0,0002	-1,45	0,149	0,34	0,736
MIP-1β	-1,51	0,133	2,64	0,009	-1,09	0,279	0,13	0,900
IL-1β	-0,99	0,323	1,95	0,052	-1,05	0,296	0,12	0,902
IL-2	-1,69	0,093	3,94	0,0001	-1,79	0,075	0,11	0,916
IL-4	-1,67	0,097	4,37	<0,0001	-2,02	0,044	0,11	0,916
IL-5	-1,26	0,209	4,44	<0,0001	-2,24	0,026	0,19	0,853
IL-6	-1,69	0,093	4,01	<0,0001	-2,05	0,042	0,13	0,895
IL-7	-1,66	0,098	3,67	0,0003	-2,08	0,038	-0,06	0,954
IL-8	-1,32	0,188	0,97	0,335	-1,04	0,301	-0,25	0,806
IL-10	-2,18	0,030	1,86	0,064	-0,74	0,458	-0,31	0,759
IL-12	-1,51	0,133	4,10	<0,0001	-1,93	0,054	0,12	0,903
IL-13	-1,75	0,082	3,70	0,0003	-1,66	0,098	0,02	0,986
IL-17	-1,46	0,147	4,61	<0,0001	-2,20	0,029	0,20	0,843

Zusätzlich ergab sich eine signifikant positive Korrelation zwischen den Zytokinspiegeln von IL-8 und dem Alter bei T1D-Manifestation (t-Wert= 4,69, p<0,0001).

Hinsichtlich des Geschlechts und der Diabetesdauer konnten keine signifikanten Zusammenhänge gefunden werden.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

4.1.1 Antikörper

Glutamatdecarboxylase 65, Tyrosinphosphatase IA-2 und Insulin stellen die Hauptautoantigene im Typ 1 Diabetes dar. Autoantikörper gegen diese Antigene sind schon lange vor T1D-Manifestation im Serum detektierbar. Sie dienen der Klassifizierung der Erkrankung und werden verwendet, um die Krankheitsaktivität und den Krankheitsverlauf zu beurteilen [82].

Beim Auftreten erster Symptome des Diabetes können immundiagnostische Methoden bei Problemen der Zuordnung zu einer Krankheitsklasse sehr hilfreich sein. Das kombinierte Screening auf IAA und GADA bei Patienten unter 10 Jahren bzw. von IA2-Ab und GADA bei Patienten über 10 Jahren ist die immunologische Diagnostik erster Wahl [131, 157, 158, 164, 166]. Bei Verdacht auf LADA, bei Patienten über 30 Jahren und einem langsam progredienten Krankheitsverlauf, sollte das primäre Screening auf GADA erfolgen [90, 131, 154, 175]. GAD65-Autoantikörper treten in allen Krankheitsklassen des Typ 1 Diabetes auf. Um immunologische Unterschiede zwischen diesen Krankheitsklassen zu eruieren, stellt GADA den passenden Parameter dar.

Zur Analyse der GAD65-Autoantikörper-Titer wurden zwei Messmethoden verwendet: der Radioimmunoassay (RIA) und der Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay (ELISA). Ein Vergleich der beiden Verfahren ergab, dass die GADA-Titer der beiden Methoden keine exakte Korrelation aufweisen. Der Zusammenhang zwischen GADA (RIA) und GADA IgG_{gesamt} bzw. IgG1 ist signifikant, für GADA IgG4 konnte allerdings keinerlei Korrelation mit GADA (RIA) erfasst werden.

Laut Hersteller hat der in dieser Arbeit verwendete GAD65-ELISA eine Sensitivität von 69% und eine Spezifität von 98% [143]. Für die Methode des GAD65-RIA konnte eine Sensitivität von 74-80% und eine Spezifität von 92-98% erzielt werden

[8]. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch ein vorselektioniertes Patientengut getestet, wodurch diese Werte der Sensitivität und Spezifität auf diese Arbeit nicht direkt übertragbar sind.

Als mögliche Erklärung für die Ergebnisabweichungen zwischen ELISA und RIA können Unterschiede in den Versuchsbedingungen verantwortlich sein. Im Versuchsablauf des RIA liegt das Antigen GAD65 in löslicher Form vor, im ELISA dagegen in fester Phase. Bei ELISA ändern die betreffenden Autoantigene, gerade beim klassischen „Coating“ auf ELISA-Platten, ihre native sterische Konformation. Als Folge davon werden die entstandenen linearen Epitope von den Autoantikörpern schlechter erkannt, so dass ein deutlicher Verlust an Sensitivität droht [55]. Die verringerte Sensitivität beruht hauptsächlich auf dem Unvermögen, auch niedrig-titrige GADA in T1D-Seren nachzuweisen. Diese Tatsache haben wir versucht im Studiendesign zu umgehen, indem lediglich hoch-titrige GADA-Seren verwendet wurden.

Flüssigphasenassays zeigten bei sehr hohen Antikörperkonzentrationen einen Signalabfall, der auf einer inkompletten Antigen-Antikörper-Reaktion beruht, dem sog. „prozone“ Effekt.

Es muss hier verdeutlicht werden, dass die Methoden RIA und ELISA letztendlich nicht „die gleichen“ Antikörper-Populationen nachweisen.

Der Radioimmunassay gilt als Goldstandard zur Bestimmung der GAD65-Autoantikörper, wogegen der ELISA sich bisher nicht etablieren konnte.

Glutamatdecarboxylase 65 stellt ein Hauptautoantigen im T1D dar [80, 120]. Antikörper gegen GAD65 gehören größtenteils zur Immunglobulinklasse G. Die vier IgG-Subklassen stellen den Hauptanteil des Serumimmunglobulins dar.

Studien an Tiermodellen des autoimmunen Diabetes haben gezeigt, dass die Immunreaktion durch eine Th1-dominierte Antwort geprägt ist [16, 67, 110, 151]. Bei den T1D-Klassen, die erst im höheren Alter ihre Manifestation zeigen, soll die lange Latenzphase durch eine wenig aggressive Th2-Antwort bedingt sein [75, 132]. Andere Studien implizieren, dass T1D durch eine spontan auftretende Th1-Autoimmunität gegen ein primäres Autoantigen entsteht, die sich im Verlauf der Erkrankung auf weitere Autoantigene der pankreatischen Inseln ausweitet sog. „epitope spreading“ [103, 144, 145, 146].

Im Menschen gibt es Hinweise darauf, dass die Th2-Immunität mit IgG4 und IgE Antikörpern assoziiert ist, da die Bildung dieser beiden Antikörpersubklassen durch das Th2 Zytokin IL-4 stimuliert werden kann [22, 91] und da diese Antikörper charakteristisch für die Th2-dominierte Antwort bei Atopie sind. Die IgG-Subklasse, die in Th1-dominierten Immunantworten gefunden wird, ist häufig auf IgG1 begrenzt, kann aber auch andere Subklassen, wie IgG2 und IgG3, miteinschließen [137, 163].

In unseren Analysen zeigen sich für IgG4 GADA höhere mediane Titer als für IgG1 GADA. Da in dieser Arbeit für IgG1 und IgG4 GADA keine absoluten Werte, sondern nur sog. Ulm Units, eine arbiträre Einheit, ermittelt wurden, können diese Daten jedoch quantitativ nicht weiter interpretiert werden.

Aus anderen Studien an Immunglobulin G Subklassen der Autoantikörper GAD65 weiß man jedoch, dass IgG1 bei den GAD65-Autoantikörpern die dominante Subklasse darstellt [22, 49, 66]. So zeigte eine Untersuchung der Antikörper-Subklassen der BABYDIAB-Studie, dass GAD65-Autoantikörper von einer IgG1-Antwort dominiert werden. Das Auftreten von einer möglicherweise Th2-assoziierten IgG4-Antwort war in deren Kohorte nicht mit einer Protektion vor T1D in Verbindung zu bringen [10].

Bei den Immunglobulin G GAD65-Autoantikörpern, die durch ELISA detektiert wurden, fällt auf, dass es deutliche Titer-Unterschiede zwischen den Geschlechtern gibt. Die weiblichen Patienten erreichen höhere mediane Level als die männlichen Patienten.

Frauen haben eine höhere Inzidenz an autoimmunen Erkrankungen [21]. Bei der Inzidenz des T1D konnten keine Geschlechtsunterschiede gefunden werden. Es liegen bereits Daten aus anderen Studien vor, die darauf hinweisen, dass weibliche T1D-Patienten höhere GADA-Level haben als männliche Patienten [88, 129].

Insgesamt konnte in unseren Analysen für den T1D gezeigt werden, dass die GAD65-Autoantikörper-Level (RIA), die IgG-GADA und die IgG-Subklassen IgG1 und IgG4 GADA größtenteils unabhängig vom Alter der T1D-Manifestation sind. Korrelationen, die nachgewiesen wurden, können durch Ausreißer erklärt werden.

Das Auftreten von Insulin-Autoantikörpern ist im Verlauf der T1D-Entwicklung altersabhängig [157, 158, 165, 166]. Für GAD65-Autoantikörper konnte noch kein eindeutiger Zusammenhang mit dem Alter festgestellt werden. Es gibt Studien, die zeigen, dass weibliche T1D-Patienten im mittleren Lebensalter die höchsten GADA-Titer aufweisen [88, 129]. Auch unsere Ergebnisse konnten für weibliche T1D-Patienten eine positive Korrelation zwischen IgG1 GADA Leveln und Alter zeigen.

Hillman et al. implizieren, dass es einen Unterschied in den GAD65-Antikörper IgG-Subklassen zwischen den Krankheitsklassen T1D und LADA gibt. IgG4 GADA scheinen häufiger im LADA als im T1D aufzutreten [46]. Mit unseren Daten konnten wir diese Ergebnisse nicht belegen. Dies könnte u.a. daran liegen, dass *Hillman et al.* in seinen Versuchen einen Radioimmuno-Precipitations-Assay mit IgG-Subklassen spezifischer Sepharose verwendeten, wogegen wir einen Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay verwendet haben (s.o.).

Der LADA kann anhand der Höhe der Autoantikörper-Level in zwei Subklassen unterteilt werden: Der LADA Typ 1 ist durch hohe GAD65-Autoantikörper-Titer und durch Insulindefizienz charakterisiert, wogegen der LADA Typ 2 eher niedrige GAD65-Autoantikörper-Titer aufweist. Der LADA Typ 1 ist phänotypisch dem klassischen T1D gleich, der LADA Typ 2 zeigt den klinischen und metabolischen Phänotyp des Typ 2 Diabetikers [86, 90].

Diese Vielfalt der verschiedenen Subklassen des T1D inklusive des LADAs lässt darauf schließen, dass die individuelle Einordnung der Patienten sehr schwierig ist. Man benötigt umfangreiche Daten und eine Anwendung im klinischen Alltag findet man selten. Leider war es daher in dieser Arbeit nicht möglich, die Patienten den Subklassen zuzuordnen. Wir konnten lediglich nach dem Alter der Diabetesmanifestation differenzieren.

4.1.2 Zytokine

Bei der Pathogenese des Typ 1 Diabetes kommt es zu einer Infiltration der pankreatischen Inseln durch pathogene T-Zellen, B-Zellen und Makrophagen [9, 126]. Die dabei vom Insulitisinfiltrat produzierten Zytokine spielen eine wichtige Rolle als Effektormoleküle der β -Zelldestruktion [24, 173].

Zytokine wirken auf Mikroebene, lassen sich aber als Marker auf Makroebene im Serum oder Plasma gut bestimmen. In der vorliegenden Arbeit wurden Zytokine im peripheren Serum der T1D-Patienten analysiert.

Die Zytokinproduktion im Menschen ist ein dynamischer Prozess, welcher vielen Einflussfaktoren unterliegt. Es muss darauf hingewiesen werden, dass bei Zytokinbestimmungen im peripheren Blutserum nicht geklärt und beachtet werden kann, wo der Ursprungsort dieser Zytokine ist.

Betrachtet man die medianen Zytokinlevel aller Patienten so fällt auf, dass MCP-1, MIP-1 β und IL-6 relativ hohe Titer annehmen.

MCP-1 (CCL2) und MIP-1 β (CCL4) gehören zur Gruppe der CC-Chemokine. Sie spielen eine zentrale Rolle in inflammatorischen Prozessen, indem sie die Leukozytenmigration zum Ort der Entzündung regulieren. Dem Zytokin IL-6 werden sowohl pro- als auch antiinflammatorische Effekte zugeordnet [5, 6]. Es ist mitunter verantwortlich für die Genese von Fieber und die Aktivierung von Akute-Phase-Reaktionen.

MCP-1 und IL-6 gehören zu den Markern für chronisch vaskuläre Entzündungen. Sowohl T1D-Patienten als auch T2D-Patienten weisen erhöhte Serumwerte dieser beiden Zytokine auf [1, 56, 121].

In der vorliegenden Studie konnte zwischen den meisten Zytokinen (GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , TNF- α , MCP-1, MIP-1 β , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-13, IL-17) und dem Manifestationsalter des T1D eine positive Korrelation nachgewiesen werden. Diese Korrelationen sind jedoch nicht sehr stark und können auch durch generelle Veränderungen des Zytokinmusters durch das menschliche Altern und die Zunahme von Komorbidität im Alter bedingt sein.

Studien an Mäusen suggerieren einen altersabhängigen Shift von Th1-Zytokinen (IL-2, IFN- γ) zu Th2-Zytokinen (IL-4, IL-6, IL-10) [133]. *Gardner et al.* gab einen Überblick über 60 Studien an Menschen, bei denen Th1-Zytokine, Th2-Zytokine bzw. beide evaluiert worden waren [36]. Die Ergebnisse sind teilweise sehr widersprüchlich [36]. Die altersassoziierten Veränderungen in der Zytokinproduktion bewirken nicht immer einen Shift zu Th2-Zytokinen [36].

Th1-Zellen und Th2-Zellen existieren nebeneinander in jedem Individuum [71] und können die Zytokinprofile im Blut beeinflussen. So können z.B. Virusinfektionen, die Th1-dominiert sind, eine Erhöhung von Zytokinen, wie TNF- α und IFN- γ , bewirken. Auch bei chronischer Herzinsuffizienz können TNF- α und andere proinflammatorische Zytokine erhöht sein [85, 174]. Weitere Komorbiditäten, wie Allergien, Asthma und COPD können das Zytokinmuster ebenfalls beeinflussen [116, 162]. Zahlreiche Peptide und damit auch Zytokine werden im Tubulussystem der Niere abgebaut. Mit sinkender Nierenfunktion wird damit die Clearance der Zytokine beeinträchtigt wodurch deren Konzentration im Serum ansteigen kann [30].

Daten aus Tiermodellen des Typ 1 Diabetes deuten darauf hin, dass proinflammatorische Th1-Zytokine die Progression der Erkrankung bewirken und antiinflammatorische Th2-Zytokine eine protektive Wirkung gegenüber der Erkrankung zeigen [87, 144]. *Durinovic-Belló et al.* unterstützen dagegen die Hypothese, dass sowohl Th1-Zytokine, als auch Th2-Zytokine in den Pathomechanismus des T1D involviert sind [31].

Arif et al. konnten zeigen, dass bei klassischen T1D-Patienten neben Th1-Zytokin (IFN- γ) produzierenden T-Zellen auch T-Zellen nachweisbar sein können, die Th2-Zytokine (IL-10) produzieren [2]. Dabei waren Patienten, die eine Th2-Antwort aufwiesen, zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation signifikant älter als Patienten, die lediglich eine Th1-Antwort zeigten [2]. Dies impliziert, dass bei Patienten mit vorhandener Th2-Antwort die Erkrankung weniger progressiv ist und, dass Th2-Zytokine für die Latenz des autoimmunen Diabetes verantwortlich sein können [2].

Betrachtet man die untersuchten Patienten, bei denen die Zytokinbestimmung zum Zeitpunkt der T1D-Manifestation stattfand, so lässt sich eine signifikante positive Korrelation bestimmter Zytokine untereinander erkennen. Die vorliegenden Analysen zeigen einen starken Zusammenhang von IFN- γ , TNF- α und IL-1 β untereinander.

IFN- γ und TNF- α werden vorwiegend von Th1-Zellen produziert und stellen wichtige Vertreter der proinflammatorischen Zytokine dar. IL-1 β zählt ebenfalls zu den proinflammatorischen Zytokinen und wird v.a. von Makrophagen produziert.

Es ist bekannt, dass ein „Cocktail“ aus diesen drei Zytokinen, IFN- γ , TNF- α und IL-1 β , *in vitro* toxisch auf menschliche Inselzellen wirkt [97]. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass IFN- γ und TNF- α allein keine β -Zellzerstörung verursachen. In Kombination verabreicht sind sie jedoch β -zelltoxisch und induzieren die Bildung von NO in diesen Zellen [78, 139]. Im Tiermodell besitzt auch IL-1 β eine selektive Zytotoxizität gegen isolierte β -Zellen der Ratte [92, 93, 94]. Dieser Effekt wird durch die Anwesenheit von IFN- γ und TNF- α sogar noch potenziert [19, 41, 95, 96, 112].

Zum Zeitpunkt der T1D Manifestation können erhöhte Level von IL-1, TNF- α und IFN- γ sowohl in Tiermodellen als auch im Mensch nachgewiesen werden [16, 29, 44, 50, 51, 61, 96, 114, 127, 150, 161].

In unseren statistischen Analysen haben wir zur Minimierung der Datenkomplexität der Zytokine das hypothetische Modell der Hauptkomponentenanalyse angewandt, in der die Zytokinvariablen in zwei Hauptkomponenten, d.h. lineare Funktionen, die aus den Variablen gebildet werden, zusammengefasst wurden.

Die erste Hauptkomponente korreliert dabei positiv mit allen gemessenen Zytokinen. Man vermutet, dass es sich dabei vereinfacht um eine Aktivierung des Immunsystems handeln könnte.

Die zweite Hauptkomponente korreliert teils positiv, teils negativ mit den Zytokinen. Ein positiver Zusammenhang zeigt sich dabei für die Zytokine IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF, MCP-1 und MIP-1 β . Diese Zytokine können von aktivierten Makrophagen sezerniert werden. Die Aktivierung von Th1-Zellen durch Makrophagen führt unter anderem zur Synthese von MCP-1 [40]. Es wird angenommen, dass in der Pathogenese des T1D Zytokine, die von

inflammatorischen Th1-Zellen und aktivierten Makrophagen sezerniert werden, zum Verlust der β -Zell-Funktion und zum Absterben dieser Zellen führen [96, 115]. Durch Studien ist belegt, dass die proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF- α einen zytotoxischen, zytostatischen oder zytozidalen Effekt auf pankreatische Inselzellen durch die Produktion des Zellgiftes NO haben [33, 142]. *Hussain et al.* konnten sogar zeigen, dass um den Zeitpunkt der T1D-Manifestation erhöhte Level von Zytokinen vorliegen, die von Makrophagen gebildet werden (speziell TNF- α und IL-1) [51]. Die zweite Hauptkomponente könnte die Immunreaktion durch Th1-Zellen und Makrophagen zusammenfassen. Einen negativen Zusammenhang mit der zweiten Hauptkomponente ergibt sich für IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IFN- γ und GM-CSF. Hierunter gehören die Zytokine IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 zu den antiinflammatorischen Th2-Zytokinen [102]. Diese Zytokine bewirken eher eine humorale Immunantwort. Sie sollen protektiv sein, indem sie der T1D-Entwicklung entgegen wirken.

Die korrespondierend durchgeführte Faktorenanalyse ist, wie die Hauptkomponentenanalyse, ebenfalls ein Dimensionsreduktionsverfahren. Wir verwendeten hier zwei Faktoren, die als Einflussgrößen auf die Variablen Zytokin-Level der verschiedenen Zytokine angesehen werden können. Diese Einflussfaktoren sind oftmals nicht erkennbare Variablen.

Auch in dieser Analyse wird deutlich, dass IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF, MCP-1 und MIP-1 β eine Gruppe aus proinflammatorischen Zytokinen bilden, die ein differentes Verhalten zu allen anderen gemessenen Zytokine zeigen.

Der Großteil dieser Zytokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α , MCP-1 und MIP-1 β) kann dem sog. *Innate* Immunsystem zugeschrieben werden. Das *Innate* Immunsystem stellt ein angeborenes, unspezifisch wirkendes System dar, das in der Regel die erste, frühe Phase der Abwehr von Krankheitserregern bestimmt [108]. Es kann somit angenommen werden, dass die immunologischen Prozesse bei T1D eine Kombination aus aktiviertem adaptiven Immunsystem (T-Zellen, B-Zellen, Antigen präsäsentierende Zellen) und aktiviertem *Innate* Immunsystem darstellen.

4.1.3 Antikörper und Zytokine

Eine große Stärke unserer Untersuchungen ist die Vielfalt der Daten. Somit kann der Bezug zwischen den GAD65-Antikörpern und dem Zytokinmuster in Relation zum Alter des T1D-Erkrankungsbeginns analysiert werden.

Dabei zeigten sich signifikant positive Zusammenhänge zwischen den Zytokinen GM-CSF, G-CSF, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, IL-17 und den Glutamatdecarboxylase65-Antikörpern der Subklasse IgG_{gesamt}. Dies könnte darauf hinweisen, dass hohe Level an Glutamatdecarboxylase65-Antikörper mit einer Aktivierung des gesamten Immunsystems mit konsekutiver Erhöhung der meisten Zytokine im peripheren Blut einhergehen.

Da sich diese Zusammenhänge lediglich im Rahmen von multiplen Testen gezeigt haben, muss eingeräumt werden, dass insgesamt kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Antikörperlevel und Zytokinlevel gefunden werden konnte. Diese Tatsache könnte ein Indiz dafür sein, dass die Inselzell-Autoantikörper, insbesondere GAD65-Autoantikörper, lediglich einen Nebeneffekt bei der Zerstörung der pankreatischen β -Zellen darstellen. Sie scheinen nicht mit der Stärke der Immunreaktion in Zusammenhang zu stehen. Der Inselantikörperstatus, d.h. die Antikörperpositivität bzw. die Anzahl der positiven Autoantikörper (GADA; IA-2-Ab und ICA), ist dagegen mit der systemischen Immunregulation assoziiert [42]. Es muss jedoch betont werden, dass multivariate Statistikmethoden nicht eindeutig interpretierbar sind.

4.1.4 Probleme bei der Arbeit

Typ 1 Diabetes ist eine Erkrankung, die eine längere präklinische Latenzphase aufweist. Bereits in dieser Phase findet die Autoimmunreaktion statt, die zu der Zerstörung der Insulin produzierenden β -Zellen führt. Zum Zeitpunkt der Manifestation des T1D sind die immunologischen Prozesse gegen die pankreatischen Inseln fast beendet.

Inhalt dieser Studie war es, die Reaktionen des Immunsystems bei T1D-Patienten zu erfassen. Es wurden Seren von Patienten ausgewählt, die einen manifesten T1D haben. Ein Großteil der Seren wurde bei der Manifestation des T1D entnommen. Zu diesem Zeitpunkt ist die autoimmune Zerstörung der meisten β -Zellen (ca. 80%) bereits geschehen. Aus einer Vielzahl von Studien ist bekannt, dass T1D-assoziierte Autoantikörper nach T1D-Manifestation mit der Zeit abnehmen [28, 74, 169]. Die Manifestation der Erkrankung stellt einen guten Zeitpunkt dar, um die Immunreaktion bei T1D-Patienten zu erfassen.

Für die Beurteilung der vorliegenden Ergebnisse ist neben der sorgfältigen Probandenauswahl auch der methodische Ansatz wichtig.

In den letzten 20 Jahren der immunologischen Forschung sind Zytokine immer mehr in den Mittelpunkt des Forschungsinteresses gerückt. Zytokine können mittels verschiedener Messverfahren wie Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA), Radioimmuno Assay (RIA), messenger RNA, Westernblot und FACS bestimmt werden. In meiner Arbeit wurde ein spezieller Bead-based Multiplex Sandwich Immunoassay von *Bio-Rad* verwendet. Diese Methode entspricht einem Fluoreszenz-ELISA und ermöglicht die Detektion von 17 humanen Zytokinen in einem Versuch. Dieser Versuch wurde strikt nach den Angaben des Herstellers durchgeführt.

Eine Doppelbestimmung der Zytokin-Messwerte wurde nicht durchgeführt. Eine Minimierung der Fehlerbreite der Einzelmessungen wurde durch die Detektionsmethode des Zytokin-Assays erhalten, bei der jeweils 100 Einzelmessungen pro Well durchgeführt und gemittelt wurden.

Bei der Detektion der GAD65-Autoantikörper mittels ELISA wurden Doppelwerte bestimmt. Der jeweilige Mittelwert ging in die Auswertung ein.

Die Ergebnisse der beiden verwendeten Messmethoden können durch diverse Serumproteine beeinflusst werden. Um derartige Fehler zu verringern, wurden die Proben vor jedem Versuch abzentrifugiert.

Bei der großen Probandenzahl musste speziell bei dem ELISA auf eine Standardisierung der Teste geachtet werden. Die Inkubationszeiten wurden stets exakt eingehalten. Es wurden für jeden Versuch dieselben geeichten Pipetten verwendet und die Waschvorgänge wurden jeweils nach einem bestimmten Schema durchgeführt. Es könnten sich leichte Unterschiede in den Temperaturen der Reagenzien ergeben haben. Diese lassen sich einerseits durch unterschiedliche Umgebungstemperaturen und durch geringe Differenzen in den Zeiten der Auftauphase der Proben erklären.

Während der Versuchsphase ereignete sich leider bei der Firma Roche, die das ELISA Test-Kit herstellt, ein Produktionsproblem. Dies hatte zur Folge, dass ein Teil der verwendeten ELISA Test-Kits eine andere Kalibrierung aufwiesen.

Wie bereits erwähnt war die Einordnung der Patienten in die Subklassen des T1D leider nicht möglich. Bei der Datenauswertung wurde somit lediglich nach dem Alter der T1D-Manifestation differenziert. Der T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter konnte damit relativ gut abgegrenzt werden. Zwischen den Subtypen T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter und LADA konnte jedoch nicht unterschieden werden.

In den statistischen Analysen muss auf das Problem des multiplen Testens hingewiesen werden. Bei mehrfachem Testen am gleichen Datenmaterial ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass ein möglicher, aber nicht vorhandener Unterschied aufgedeckt wird. So sind die Ergebnisse am ehesten rein deskriptiv anzusehen.

4.2 Erklärungsmodelle – Immunnetzwerk

Obwohl es ausführliche Informationen über die Pathogenese des T1D in der NOD Maus und der BB Ratte gibt, besteht dagegen nur ein beschränktes Wissen über die Pathogenese des humanen Typ 1 Diabetes.

Durch Untersuchungen an der NOD-Maus ist ein komplexes pathogenetisches Bild entstanden [39]. Makrophagen/dendritische Zellen sind die Zelltypen, die bei der Entstehung des T1D als erste die Pankreasinseln infiltrieren [69]. Als initialer Schritt der immunologischen Kaskade werden Autoantigene der β -Zellen über MHC-Klasse-II Moleküle den $CD4^+$ T-Helferzellen präsentiert. Aktivierte Makrophagen und $CD4^+$ T-Zellen schütten daraufhin proinflammatorische Zytokine, wie $IL-1\beta$, $TNF-\alpha$ und $IFN-\gamma$, aus. Diese Zytokine führen dazu, dass $CD8^+$ T-Zellen zum Ort des Geschehens angelockt werden und dort über die Ausschüttung von Perforinen und Granzymen und durch Fas-medierte Apoptose die β -Zellen zerstören [69]. Dies stellt nur eines von vielen möglichen Modellen der β -Zellzerstörung dar.

Eine weitere Hypothese ist, dass die pathogenetische Immunantwort bei der Inflammation der β -Zellen von Th1-Zellen mediiert wird [10, 22, 128]. Den Th2-Zellen wird eher eine protektive Funktion zugesprochen. Th1-Zellen und Th2-Zellen produzieren verschiedene Zytokin-Muster. Th1-Zellen sezernieren $IL-2$, $IFN-\gamma$ und $TNF-\alpha$ und aktivieren zelluläre Immunität, wogegen Th2-Zellen $IL-4$, $IL-5$, $IL-6$, $IL-9$, $IL-10$ und $IL-13$ ausschütten und die humorale Immunität stimulieren. Studien behaupten, dass Th1-Zytokine β -zelldestruktiv wirken und Th2-Zytokine die β -Zellen schützen indem sie die Th1-Zytokin Expression supprimieren [133].

Selbst wenn dieses beschriebene Th1/Th2 Paradigma eine zu starke Vereinfachung erfährt, ist es trotzdem sehr wahrscheinlich, dass Th1-Zellen und die Th1-assoziierten Zytokine an der β -Zell-Zerstörung beteiligt sind [124].

Auch Makrophagen, die das initiale β -Zell-Infiltrat darstellen, sind an den Immunprozessen beteiligt. Sie sezernieren die Zytokine $IL-1$ (α und β), $TNF-\alpha$ und $IFN-\gamma$, die ebenfalls β -Zelldestruktion induzieren können.

4.3 Schlussfolgerung

Die Subklassen des T1D treten klinisch mit unterschiedlich langer Latenzphase in Erscheinung. Es wurden in dieser Arbeit keine immunologisch basierten Ursachen für die variable Latenz gefunden. Die Vermutung, dass bei juvenilem T1D eine Dominanz der Th1-Antwort vorliegt, wogegen der LADA eher durch eine Th2-Antwort geprägt ist, konnte jedenfalls nicht bestätigt werden. Es hat sich vielmehr gezeigt, dass im Serum von T1D-Patienten in jedem Alter sowohl IgG1 GAD65-Antikörper als auch IgG4 GAD65-Antikörper gefunden werden. Auch die Serum-Zytokine der T1D-Patienten zeigten in den Krankheitsklassen vergleichbare Profile. Eine Gruppe aus proinflammatorischen Zytokinen (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF, MCP-1, MIP-1 β), die eine Kombination aus aktiviertem adaptiven und aktiviertem *Innate* Immunsystem darstellen, legt ein von anderen Zytokinen differentes Verhalten dar.

Die hier vorgestellten Ergebnisse implizieren, dass alle Subklassen des T1D, von der Manifestation im Kindesalter bis zu LADA, durch ähnliche immunologische Prozesse geprägt sind.

5 Zusammenfassung

Der Diabetes mellitus Typ 1 (T1D) wird durch eine immunvermittelte Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas verursacht. Man unterteilt den T1D in drei Subklassen, den T1D mit Manifestation im Kindesalter, den T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter und den Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA). Diese Krankheitsklassen unterscheiden sich v.a. im Manifestationsalter, aber auch hinsichtlich genetischer, immunologischer und klinischer Aspekte.

Es stellt sich die Frage, warum diese T1D-Subklassen unterschiedlich lange Phasen der Latenz aufweisen. Man vermutet, dass der juvenile T1D durch eine Th1-Zell-dominierte Immunantwort geprägt ist, wogegen bei den T1D-Klassen, die erst im Erwachsenenalter ihre Manifestation zeigen, eine weniger aggressive Th2-Antwort vorherrscht.

Um dieser Hypothese nachzugehen, wurden in der vorliegenden Arbeit immunologische Marker im peripheren Serum von „jungen“ bis „alten“ T1D-Patienten bestimmt. Mittels eines Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay (ELISA) hat man die Antikörpersubklassen der GAD-Autoantikörper, speziell Immunglobulin G_{gesamt}, Immunglobulin G1 und Immunglobulin G4 gemessen. Zusätzlich wurden 17 humane Zytokine (Interleukine 1 β , 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 17, TNF- α , INF- γ , GM-CSF, G-CSF, MCP-1 und MIP-1 β) durch einen Fluoreszenz-ELISA detektiert.

Insgesamt konnten in dieser Arbeit keine immunologisch basierten Ursachen für die variablen Latenzphasen der T1D-Subklassen gefunden werden. Sowohl die GAD-Autoantikörper-Subklassen als auch die Zytokine zeigten sich als größtenteils unabhängig vom Alter der Diabetesmanifestation. Die Vermutung, dass bei juvenilem T1D eine Dominanz der Th1-Antwort vorliegt, die durch die Antikörpersubklasse IgG1 und die Zytokine IL-2, TNF- α und INF- γ geprägt ist, konnte nicht bestätigt werden. Auch für den T1D im Erwachsenenalter ergab sich

kein, durch Dominanz der Antikörpersubklasse IgG4 und der Zytokine IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 und IL-13 ausgezeichnetes, Th2-Immunschema. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass die Zytokine IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF, MCP-1, MIP-1 β eine Gruppe aus proinflammatorischen Zytokinen bilden, die dem angeborenen Immunsystem zuzuschreiben sind und, die ein differentes Verhalten zu allen anderen Zytokinen zeigen.

Speziell zwischen den Zytokine IL-1 β , TNF- α und IFN- γ ergab sich ein Zusammenhang untereinander. Diese Zytokine nehmen in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes eine besondere Rolle ein. Es wird vermutet, dass sie an der β -Zelltoxizität direkt beteiligt sind.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass alle Subklassen des T1D durch sehr ähnliche immunologische Prozesse geprägt sind, wobei sowohl das angeborene, als auch das erworbene, adaptive Immunsystem involviert sind. Unterschiede im Zytokinmuster bzw. in den GAD65-Antikörper-Level in Abhängigkeit vom Alter der T1D-Manifestation konnten in dieser Arbeit weder widerlegt noch bestätigt werden.

Literaturverzeichnis

1. Amann B, Tinzmann R, Angelkort B: ACE Inhibitors Improve Diabetic Nephropathy Through Suppression of Renal MCP-1. *Diabetes Care* 26: 2421–2425 (2003)
2. Arif S, Tree TI, Astill TP, Tremble JM, Bishop AJ, Dayan CM, Roep BO, Peakman M: Autoreactive T cell responses show proinflammatory polarization in diabetes but a regulatory phenotype in health. *J Clin Invest.* 113: 451-463 (2004)
3. Atkinson MA, Bowman MA, Campbell L, Darrow BL, Kaufman DL, Maclaren NK: Cellular immunity to a determinant common to glutamate decarboxylase and coxsackie virus in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 94: 2125-2129. (1994)
4. Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Chritgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, et al. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 347: 151-156 (1990)
5. Barton BE, Shortall J, Jackson JV: Interleukins 6 and 11 protect mice from mortality in a staphylococcal enterotoxin-induced toxic shock model. *Infect Immun* 64: 714-718 (1996)
6. Barton BE: IL-6: insights into novel biological activities. *Clin Immunol Immunopathol* 85: 16-20 (1997)
7. Bell GI, Horita S, Karam JH: A polymorphic locus near the human insulin gene is associated with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 33: 176-183. (1984)
8. Bingley PG, Bonifacio E, Mueller PW: Diabetes Antibody Standardization Program: first assay proficiency evaluation. *Diabetes* 52: 1128-36 (2003)
9. Boehm BO, Bluestone JA: Differential Roles of Costimulatory Signaling Pathways in Type 1 Diabetes Mellitus. *Rev Diabet Stud* 1:156-164 (2004)
10. Bonifacio E, Scirpoli M, Kredel K, Fuchtenbusch M, Ziegler AG. Early autoantibody responses in prediabetes are IgG1 dominated and suggest antigen-specific regulation. *J Immunol* 163: 525-532 (1999)
11. Borg H, Gottsater A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Sundkvist G. High levels of antigen-specific islet antibodies predict future beta-cell failure in patients with onset of diabetes in adult age. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3032-3038 (2001)

12. Borg H, Gottsater A, Fernlund P, Sundkvist G. A 12-year prospective study of the relationship between islet antibodies and beta-cell function at and after the diagnosis in patients with adult-onset diabetes. *Diabetes* 51: 1754-1762 (2002)
13. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D: Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 2: 1279-1283 (1974)
14. Bu DF, Erlander MG, Hitz BC, Tillakaratne NJ, Kaufman DL, Wagner-McPherson CB, Evans GA, Tobin AJ. Two human glutamate decarboxylase, 65-kDa GAD and 67-kDa GAD, are each encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 2115-2119. (1992)
15. Buschard K, Josefsen K, Horn T, Fredman P: Sulphatide and sulphatide antibodies in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 342: 840 (1993)
16. Campbell IL, Kay TW, Oxbrow L, and Harrison LC: Essential role for interferon- γ and interleukin-6 in autoimmune insulin-dependent diabetes in NOD/Wehi mice. *J Clin Invest* 87: 739 -742 (1991)
17. Cantor AB, Krischer JP, Cuthbertson DD, Schatz DA, Riley WJ, Malone J, Schwartz S, Quattrin T, Maclaren NK: Age and family relationship accenuate the risk of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) in relatives of patients with IDDM. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 3739-3743 (1995)
18. Castano L, Russo E, Zhou L, Lipes MA, Eisenbarth GS: Identification and cloning of a granule autoantigen (carboxypeptidase-H) associated with type I diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 73: 1197-1201 (1991)
19. Cetkovic-Cvrlje M, Eizirik DL: TNF- α and IFN- γ potentiate the deleterious effects of IL-1 β on mouse pancreatic islets mainly via generation of nitric oxide. *Cytokine* 6: 399-406 (1994)
20. Chao CC, Sytwu HK, Chen EL, Toma J, McDevitt HO: The role of MHC class II molecules in susceptibility to type 1 diabetes: identification of peptide epitopes and characterization of the T-cell repertoire. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 9299-9304 (1999)
21. Cooper GS, Stroehla BC: The epidemiology of autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2: 119-125 (2003)
22. Couper JJ, Harrison LC, Aldis JJ, Colman PG, Honeyman MC, Ferrante A: IgG subclass antibodies to glutamic acid decarboxylase and risk for progression to clinical insulin-dependent diabetes. *Hum Immunol* 59: 493-499 (1998)

23. Crisa L, Mordes JP, Rossini AA: Autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. *Diabetes Metab Rev* 8: 4-37 (1992)
24. Dahlén E, Dawe K, Ohlsson L, Hedlund G: Dendritic cells and macrophages are the first and major producers of TNF-alpha in pancreatic islets in the nonobese diabetic mouse. *J Immunol* 160: 3585-3593 (1998)
25. Dahlquist GG: Viruses and other perinatal exposures as initiating events for beta-cell destruction. *Ann Med* 29: 413-417 (1997)
26. Dahlquist GG, Patterson C, Soltesz G: Infections and vaccinations as risk factors for childhood type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a multicentre case-control investigation. EURODIAB substudy 2 study group. *Diabetologia* 43: 47-53 (2000)
27. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE, Reed PW, Gough SC, Jenkins SC, Palmer SM, Balfour KM, Rowe BR, Farrall M, Barnett AH, Bain SC, Todd JA: A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 371: 130-136 (1994)
28. Decochez K, Tits J, Coolens JL, Van Gaal L, Krzentowski G, Winnock F, Anckaert E, Weets I, Pipeleers DG, Gorus FK: High frequency of persisting or increasing islet specific autoantibody levels after diagnosis of type 1 diabetes presenting before 40 years of age. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetes Care* 23: 838-844 (2000)
29. Delovitch TL, Singh B: The nonobese diabetic mouse as a model of autoimmune diabetes: Immune dysregulation gets the NOD. *Immunity* 7: 727-738 (1997)
30. Druml W: Die Niere im akuten Nierenversagen: Vom Opfer zum Täter. *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 40: 356-360 (2003)
31. Durinovic-Belló I, Schlosser M, Riedl M, Maisel N, Rosinger S, Kalbacher H, Deeg M, Ziegler M, Elliott J, Roep BO, Karges W, Boehm BO: Pro- and anti-inflammatory cytokine production by autoimmune T cells against preproinsulin in HLA-DRB1*04, DQ8 Type 1 diabetes. *Diabetologia* 47: 439-450 (2004)
32. Ellis TM, Atkinson MA: Early infant diets and insulin-dependent diabetes. *Lancet* 347: 1464-1465 (1996)
33. Erbagci AB, Tarakcioglu M, Coskun Y, Sivasli E, Sibel Namiduru E: Mediators of inflammation in children with type I diabetes mellitus: cytokines in type I diabetic children. *Clini Biochem* 34: 645-650 (2001)

34. Finck H, Holl R: Die soziale Dimension des Diabetes mellitus. In: Deutsche Diabetes-Union (Hrsg) Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2007, Kirchheim + Co, Mainz, S. 102-112 (2006)
35. Furlanos S, Dotta F, Greenbaum CJ, Palmer JP, Rolandson O, Colman PG, Harrison LC: Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) should be less latent. *Diabetologia* 48: 2206-2212 (2005)
36. Gardner EM, Murasko DM: Age-related changes in Type 1 and Type 2 cytokine production in humans. *Biogerontology* 3: 271-290 (2002)
37. Gillespie KM, Bain SC, Barnett AH, Bingley PJ, Christie MR, Gill GV, Gale EA: The rising incidence of childhood type 1 diabetes and reduced contribution of high risk HLA haplotypes. *Lancet* 364: 1699-1700 (2004)
38. Gorus FK, Goubert P, Semakula C, Vandewalle CL, De Schepper J, Scheen A, Christie MR, Pipeleers DG: IA-2 autoantibodies in new-onset IDDM patients and help predict impending diabetes in their siblings. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetologia* 40: 95-99 (1997)
39. Green EA, Flavell RA: The initiation of autoimmune diabetes. *Curr Opin Immunol* 11: 663-669 (1999)
40. Grewal IS, Rutledge BJ, Fiorillo JA, Gu L, Gladue RP, Flavell RA, Rollins BJ: Transgenic monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in pancreatic islets produces monocyte-rich insulinitis without diabetes. *J Immunol* 159: 401 (1997)
41. Hamaguchi K, Leiter EH: (1990) Comparison of cytokine effects on mouse pancreatic cell and β -cell lines. Viability, secretory function and MHC antigen expression. *Diabetes* 39: 415-425 (1990)
42. Hanifi-Moghaddam P, Schloot NC, Kappler S, Seissler J, Kolb H: An association of autoantibody status and serum cytokine levels in type 1 diabetes. *Diabetes* 52: 1137-1142 (2003)
43. Hauner H: Diabetesepidemie und Dunkelziffer. In: Deutsche Diabetes-Union (Hrsg) Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2007, Kirchheim + Co, Mainz, S. 7-11 (2006)
44. Held W, MacDonald HR, Weissman IL, Hess MW, Mueller C: Genes encoding tumor necrosis factor α and granzyme A are expressed during development of autoimmune diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 2239-2243 (1990)
45. Hermann R, Knip M, Veijola R, Simell O, Laine AP, Akerblom HK, Groop PH, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Ilonen J; FinnDiane Study Group: Temporal changes in the frequencies of HLA genotypes in patients with type 1 diabetes - Indications of an increased environmental pressure? *Diabetologia* 46: 420-425 (2003)

46. Hillman M, Törn C, Thorgeirsson H, Landin-Olsson M: IgG4-subclass of glutamic acid decarboxylase antibody is more frequent in latent autoimmune diabetes in adults than in type 1 diabetes. *Diabetologia* 47: 1984-1989 (2004)
47. Honeyman MC, Stone NL, Harrison LC: T-cell epitopes in type 1 diabetes autoantigen tyrosine phosphatase IA-2: potential for mimicry with rotavirus and other environmental agents. *Mol Med* 4: 231-239 (1998)
48. Honeyman MC, Coulson BS, Stone NL, Gellert SA, Goldwater PN, Steele CE, Couper JJ, Tait BD, Colman PG, Harrison LC: Association between rotavirus infection and pancreatic islet autoimmunity in children at risk of developing Type 1 diabetes. *Diabetes* 49: 1219-1324 (2000)
49. Hoppu S, Ronkainen MS, Kulmala P, Akerblom HK, Knip M, The Childhood Diabetes in inland Study Group: GAD65 antibody isotypes and epitope recognition during the prediabetic process in siblings of children with type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* 136: 120-128 (2004)
50. Huang X, Hultgren B, Dybdal N, Stewart TA: Islet expression of interferon-g precedes diabetes in both the BB rat and streptozotocin-treated mice. *Immunity* 1: 469-478 (1994)
51. Hussain MJ, Peakman M, Gallati H, Lo SS, Hawa M, Viberti GC, Watkins PJ, Leslie RD, Vergani D: Elevated serum levels of macrophage-derived cytokines precede and accompany the onset of IDDM. *Diabetologia* 39: 60-69 (1996)
52. Hyote H: Enterovirus infections and type 1 diabetes. *Ann Med* 34: 138-147 (2002)
53. Inman LR, McAllister CT, Chen L, Hughes S, Newgard CB, Kettman JR, Unger RH, Johnson JH: Autoantibodies to the GLUT-2 glucose transporter of beta cells in insulin-dependent diabetes mellitus of recent onset. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 1281-1284 (1993)
54. International Diabetes Federation: At a glance. In: International Diabetes Federation (Hrsg) *Diabetes Atlas*, 3. Aufl, Brüssel (2006)
55. Jaeger C: Zur Bedeutung einer differenzierten Autoantikörperanalytik in der Diabetologie. *Med Habilitationsschrift*, Universität Giessen 2005
56. Jain SK, Kannan K, Lim G, Matthews-Greer J, McVie R, Bocchini JA Jr: Elevated blood interleukin-6 levels in hyperketonemic type 1 diabetes patients and secretion by acetoacetatetreated cultured U937 monocytes. *Diabetes Care* 26: 2139-2143 (2003)

57. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M: Allgemeine Eigenschaften bewaffneter T-Effektorzellen. In: Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M (Hrsg) Immunologie, 5. Aufl, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, S. 342-351(2002 a)
58. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M: Die humorale Immunantwort - Die Aktivierung von B-Zellen durch bewaffnete T-Helferzellen. In: Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M (Hrsg) Immunologie, 5. Aufl, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, S. 369-387(2002 b)
59. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M: Anhang III: Cytokine und ihre Rezeptoren. In: Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M (Hrsg) Immunologie, 5. Aufl, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, S. 725-727(2002 c)
60. Jasinski JM, Eisenbarth GS: Insulin as a primary autoantigen for type 1A diabetes. Clin Dev Immunol 12: 181-186 (2005)
61. Jiang Z, Woda BA: Cytokine gene expression in the islets of the diabetic Biobreeding/Worcester rat. J Immunol 146: 2990-2994 (1991)
62. Jones DB, Hunter NR, Duff GW: Heat-shock protein 65 as a beta cell antigen of insulin-dependent diabetes. Lancet 336: 583-585 (1990)
63. Jury KM, Loeffler D, Eiermann TH, Ziegler B, Boehm BO, Richter W: Evidence for somatic mutation and affinity maturation of diabetes associated human autoantibodies to glutamate decarboxylase. J Autoimmun 9: 371-377 (1996)
64. Karlens AE, Hagopian WA, Grubin CE, Dube S, Disteché CM, Adler DA, Bartheimer H, Mathewes S, Grant FJ, Foster D, Lernmark A: Cloning and primary structure of a human islet isoform of glutamic acid decarboxylase from chromosome 10. Proc Natl Acad Sci U S A 88: 8337-8341 (1991)
65. Kasimiotis H, Myers MA, Argentaro A, Mertin S, Fida S, Ferraro T, Olsson J, Rowley MJ, Harley VR: Sex-determining region Y-related protein SOX13 is a diabetes autoantigen expressed in pancreatic islets. Diabetes 49: 555-561 (2000)
66. Kasuga A, Shimada A, Ozawa Y, Maruyama T, Oya K, Saruta T: IgG1 is the dominant subclass of antibody against glutamic acid decarboxylase among type 1 diabetes in Japanese. Endocr J 47: 57-62 (2000)
67. Katz JD, Benoist C, Mathis D: T helper cell subsets in insulin-dependent diabetes. Science 268: 1185 (1995)
68. Kaufman DL, Erlander MG, Clare-Salzler M, Atkinson MA, Maclaren NK, Tobin AJ: Autoimmunity to two forms of glutamate decarboxylase in insulin dependent diabetes mellitus. J Clin Invest 89: 283-292 (1992).

69. Kay TWH, Thomas HE, Harrison LC, Allison J: The beta cell in autoimmune diabetes: many mechanisms and pathways of loss. *Trends Endocrinol Metab* 11: 11-15 (2000)
70. Kelly MA, Rayner ML, Mijovic CH, Barnett AH: Molecular aspects of type 1 diabetes. *Mol Pathol* 56: 1-10 (2003)
71. Kero J, Gissler M, Hemminki E, Isolauri E: Could TH1 and TH2 disease coexist? Evaluation of asthma incidence in children with celiac disease, Type 1 diabetes, or rheumatoid arthritis: a register study. *J Allergy Clin Immunol* 108: 781-783 (2001)
72. Knip M, Akerblom HK: Environmental factors in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107: 93–100 (1999)
73. Kobayashi T, Tamemoto K, Nakanishi K, Kato N, Okubo M, Kajio H, Sugimoto T, Murase T, Kosaka K: Immunogenetic and clinical characterization of slowly progressive IDDM. *Diabetes Care* 16: 780-788 (1993)
74. Kolb H, Dannehl K, Grünekle D, Zielasek J, Bertrams J, Hübinger A, Gries FA: Prospective analysis of islet cell antibodies in children with type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 31: 189-194 (1988)
75. Kolb H: Benign versus destructive insulinitis. *Diabetes Metab Rev* 13: 139 (1997)
76. Kreuwel HAT, Biggs JA, Pilip IM, Palmer EG, Lo D, Sherman LA: Defective CD8+ T-cell peripheral tolerance in nonobese diabetic mice. *J Immunol* 167: 1112-1117 (2001)
77. Kurrer Mo, Pakala SV, Hanson HL, Katz JD: Beta cell apoptosis in T-cell mediated autoimmune diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 213-218 (1997)
78. Laffranchi R, Spinas GA: Interferon-gamma inhibits release and induces cell death in the pancreatic beta-cell line INS-1 independently of nitric oxide production. *Exp Cell Res* 237: 217-222 (1997)
79. Lan MS, Lu J, Goto Y, Notkins AL: Molecular cloning and identification of a receptor-type protein tyrosine phosphatase, IA-2, from human insulinoma. *DNA Cell Biol* 5: 505-514 (1994)
80. Lernmark A: Glutamic Acid Decarboxylase – Gene to Antigen to Disease. *J Intern Med* 240: 259-277 (1996)
81. Leslie RD, Atkinson MA, Notkins AL: Autoantigens IA-2 and GAD in Type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 42: 3-14 (1999)

82. Leslie RD, Lipsky P, Notkins AL: Autoantibodies as predictor of disease. *J Clin Invest* 108: 1417-1422 (2001)
83. Leslie RD, Delli Castelli M: Age-dependent influences on the origins of autoimmune diabetes: evidence and implications. *Diabetes* 53: 3033-3040 (2004)
84. Leslie RD, Williams R, Pozzilli P: Type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults (LADA): one end of the rainbow. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1654-1659 (2006)
85. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M: Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 323: 236-241 (1990)
86. Li X, Yang L, Zhou Z, Huang G, Yan X: Glutamic acid decarboxylase 65 autoantibody levels discriminate two subtypes of latent autoimmune diabetes in adults. *Chin Med J (Engl)* 116: 1728-1732 (2003)
87. Liblau RS, Singer SM, McDevitt HO: Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol Today* 16: 34-38 (1995)
88. Lindholm E, Hallengren B, Agardh CD: Gender differences in GAD antibody-positive diabetes mellitus in relation to age at onset. C-peptide and other endocrine autoimmune diseases. *Diabetes Metab Res Rev* 20: 158-164 (2004)
89. Littorin B, Sundkvist G, Hagopian W, Landin-Olsson M, Lernmark A, Ostman J, Arnqvist HJ, Blohme G, Bolinder J, Eriksson JW, Lithner F, Schersten B, Wibell L: Islet cell and glutamic acid decarboxylase antibodies present at diagnosis of diabetes predict the need for insulin treatment. A cohort study in young adults whose disease was initially labeled as type 2 or unclassifiable diabetes. *Diabetes Care* 22: 409-412 (1999)
90. Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, Krug J, Steindorf J, Scherbaum WA, Seissler J: Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Diabetologia* 44: 1005-1010 (2001)
91. Lundgren M, Persson U, Lansson P, Magnusson C, Smith CIE, Hammarstrom L, Severinson E: Interleukin 4 induces synthesis of IgE and IgG4 in human B cells. *Eur J Immunol* 19: 1311 (1989)
92. Mandrup-Poulsen T, Bendtzen K, Nielsen JH, Bendixen G, Nerup J: Cytokines cause functional and structural damage to isolated islets of Langerhans. *Allergy* 40: 424-429 (1985)

93. Mandrup-Poulsen T, Bendtzen K, Nerup J, Dinarello CA, Svenson M, Nielsen JH: Affinity-purified human interleukin 1 is cytotoxic to isolated islets of Langerhans. *Diabetologia* 29: 63-67 (1986 a)
94. Mandrup-Poulsen T, Bendtzen K, Nerup J, Egeberg J, and Nielsen JH: Mechanisms of pancreatic islet cell destruction. Dose-dependent cytotoxic effect of soluble blood mononuclear cell mediators on isolated islets of Langerhans. *Allergy* 41: 250-259 (1986 b)
95. Mandrup-Poulsen T, Bendtzen K, Dinarello CA, Nerup J: Human tumor necrosis factor potentiates human interleukin 1-mediated rat pancreatic β -cell cytotoxicity. *J Immunol* 139: 4077-4082 (1987)
96. Mandrup-Poulsen T: The role of interleukin-1 in the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 39: 1005-1029 (1996)
97. Mauricio D, Mandrup-Poulsen T: Apoptosis and the pathogenesis of IDDM: a question of life and death. *Diabetes* 47: 1537-1543 (1998)
98. Metroz-Dayer MD, Mouland A, Brideau C, Duhamel D, Poussier P: Adoptive transfer of diabetes and antidiabetic therapy between 1984/1985 and 1999/2001 in southern Germany. *Diabetes Care* 27: 2985-2987 (2004)
99. Naik RG, Palmer JP: Latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Rev Endocr Metab Disord* 4: 233-241 (2003)
100. Nairn C, Galbraith DN, Taylor KW, Clements GB: Enterovirus variants in the serum of children at the onset of type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 16: 509-513 (1999)
101. Olmos P, A'Hern R, Heaton DA, Millward BA, Risley D, Pyke DA, Leslie RD: The significance of the concordance rate for type 1 (insulin-dependent) diabetes in identical twins. *Diabetologia* 31: 747-750 (1988)
102. Opal SM, DePalo VA: Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest* 117: 1162-1172 (2000)
103. Ott PA, Dittrich MT, Herzog BA, Guerkov R, Gottlieb PA, Putnam AL, Durinovic-Bello I, Boehm BO, Tary-Lehmann M, Lehmann PV: T cells recognize multiple GAD65 and proinsulin epitopes in human type 1 diabetes, suggesting determinant spreading. *J Clin Immunol* 24: 327-339 (2004)
104. Pak CY, Cha CY, Rajotte RV, McArthur RG, Yoon JW: Human pancreatic islet cell specific 38 kilodalton autoantigen identified by cytomegalovirus-induced monoclonal islet cell autoantibody. *Diabetologia* 33: 569-572 (1990)

105. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, Paquette TL: Insulin antibodies in insulin-dependent diabetes before insulin treatment. *Science* 222: 1337-1339 (1983)
106. Palmer JP: Insulin autoantibodies: their role in the pathogenesis of IDDM. *Diabetes Metab Rev* 3:1005-1015 (1987)
107. Parhofer K, Landgraf R, Göke B: Diabetes mellitus. In: Classen M, Diehl V, Kochsiek K, Schmiegel W (Hrsg) *Innere Medizin*, 5. Aufl, Urban & Fischer Verlag München, Jena, S. 1531-1561 (2004)
108. Petrides PE, Ansorge S: Immunsystem. In: Loeffler G, Petrides PE (Hrsg) *Biochemie & Pathobiochemie*, 7. Aufl, Springer Berlin, Heidelberg, New York, S. 1122-1158 (2003)
109. Pietropaolo M, Castano L, Babu S, Buelow R, Kuo YL, Martin S, Martin A, Powers AC, Prochazka M, Naggert J, Leiter EH, Eisenbarth GS: Islet cell autoantigen 69 kD (ICA69). Molecular cloning and characterization of a novel diabetes-associated autoantigen. *J Clin Invest* 92: 359-371 (1993)
110. Pilstrom B, Bjork L, Bohme J: Demonstration of a TH1 cytokine profile in the late phase of NOD insulinitis. *Cytokine* 7: 806 (1995)
111. Powers AC: Diabetes mellitus. In: Dietel M, Dudenhausen J, Suttrop N (Hrsg) *Harrisons Innere Medizin*, Bd 2, 15. Aufl, ABW Wissenschaftsverlag Berlin, S. 2315-2345 (2002)
112. Pukel C, Baquerizo H, Rabinovitch A: Destruction of rat islet cell monolayers by cytokines synergistic interactions of interferon tumor necrosis factor lymphotoxin and interleukin 1. *Diabetes* 37: 133-136 (1988)
113. Pundziute-Lycka A, Dahlquist G, Nystrom L, Arnqvist H, Bjork E, Blohme G, Bolinder J, Eriksson JW, Sundkvist G, Ostman J; Swedish Childhood Diabetes Study Group: The incidence of type 1 diabetes has not increased but shifted to a younger age at diagnosis in the 34 years group in Sweden 1983-1998. *Diabetologia* 45: 783-791 (2002)
114. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL, Sorensen O, Bleackley RC, Power RF: IFN- γ gene expression in pancreatic islet-infiltrating mononuclear cells correlates with autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol* 154: 4874-4882 (1995)
115. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL: Cytokines and their roles in pancreatic islet beta-cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem Pharmacol* 55: 1139-1149 (1998)

116. Rachmiel M, Bloch O, Bistrizer T, Weintrob N, Ofan R, Koren-Morag N, Rapoport MJ: TH1/TH2 cytokine balance in patients with both type 1 diabetes mellitus and asthma. *Cytokine* 34: 170-176 (2006)
117. Redondo MJ, Yu L, Hawa M, MacKenzie T, Pyke DA, Eisenbarth S, Leslie RDG: Heterogeneity of type 1 diabetes: analysis of monozygotic twins in Great Britain and the United States. *Diabetologia* 44: 354-362 (2001)
118. Richter W, Mertens T, Schoel B, Muir P, Ritzkowsky A, Scherbaum WA, Boehm BO: Sequence homology of the diabetes-associated autoantigen glutamate decarboxylase with coxsackie B4-2C protein and heat shock protein 60 mediates no molecular mimicry of autoantibodies. *J Exp Med* 180: 721-726. (1994)
119. Richter W, Jury KM, Loeffler D, Manfras BJ, Eiermann TH, Boehm BO: Immunoglobulin variable gene analysis of human autoantibodies reveals antigen-driven immune response to glutamate decarboxylase in type 1 diabetes mellitus. *Eur J Immunol* 25: 1703-1712 (1995)
120. Richter W, Northemann W, Mueller M, Boehm BO: Mapping of an autoreactive epitope within glutamate decarboxylase using a diabetes-associated human monoclonal autoantibody and an epitope cDNA library. *Hybridoma* 15: 103-108 (1996)
121. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH: Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 101: 1767-1772 (2000)
122. Risch N: Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet* 40: 1-14 (1987)
123. Roll U, Ziegler AG: Combined antibody screening for improved prediction of IDDM - Modern strategies. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 105: 1-14 (1997)
124. Rook G: Th1- or Th2-cell commitment during infectious disease: an oversimplification? *Trends Immunol* 22: 481-482 (2001)
125. Rorsman P, Berggren PO, Bokvist K, Ericsson H, Möhler H, Östensson CG, Smith PA: Glucose inhibition of glucagon secretion involves activation of GABA-A receptor chloride channels. *Nature* 341: 233-236 (1989)
126. Rosmalen JG, Martin T, Dobbs C, Voerman JS, Drexhage HA, Haskins K, Leenen PJ: Subsets of macrophages and dendritic cells in nonobese diabetic mouse pancreatic inflammatory infiltrates: correlation with the development of diabetes. *Lab Invest* 80: 23-30 (2000)

127. Rothe H, Fehsel K, Kolb H: Tumour necrosis factor α production is upregulated in diabetes prone BB rats. *Diabetologia* 33: 573-575 (1990)
128. Schmid S, Molteni A, Fuchtenbusch M, Naserke HE, Ziegler AG, Bonifacio E: Reduced IL-4 associated antibody responses to vaccine in early pre-diabetes. *Diabetologia* 45: 677-685 (2002)
129. Schmidli RS, De Aizpurua HJ, Harrison LC, Colman PG: Antibodies to glutamic acid decarboxylase in at-risk and clinical insulin dependent diabetic subjects: relationship to age, sex and islet cell antibody status, and temporal profile. *J Autoimmun* 7: 55-66 (1994)
130. Seissler J, Amann J, Mauch L, Haubruck H, Wolfahrt S, Bieg S, Richter W, Holl R, Heinze E, Northemann W, Scherbaum WA: Prevalence of Autoantibodies to the 65- and 67-kD Isoforms of Glutamate Decarboxylase in Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *J Clin Invest* 92: 1394-1399 (1993)
131. Seissler J, de Sonnaville JJ, Morgenthaler NG, Steinbrenner H, Glawe D, Khoo-Morgenthaler UY, Lan MS, Notkins AL, Heine RJ, Scherbaum WA: Immunological heterogeneity in type I diabetes: presence of distinct autoantibody patterns in patients with acute onset and slowly progressive disease. *Diabetologia* 41: 891-897 (1998)
132. Shimada A, Charlton B, Taylor-Edwards C, Fathman G: β -cell destruction may be a late consequence of the autoimmune process in nonobese diabetic mice. *Diabetes* 45: 1063 (1996)
133. Sia C: Imbalance in Th Cell Polarization and its Relevance in Type 1 Diabetes. *Rev Diabet Stud* 2: 182-186 (2005)
134. Silink M: Interview des IDF-Präsidenten auf dem 19. Welt-Diabetes-Kongress in Kapstadt, Südafrika, 3.-7. Dezember 2006
135. Solimena M, Folli F, Aparisi R, Pozza G, DeCamilli P: Autoantibodies to GABA-ergic neurons and pancreatic beta cells in stiff-man syndrome. *N Engl J Med* 322: 1555-1560 (1990)
136. Sorenson RL, Garry DG, Brelje TC: Structural and functional considerations of GABA in islets of Langerhans. *Diabetes* 40: 1365-1374 (1991)
137. Sousa AO, Henry S, Maroja FM, Lee FK, Brum L, Singh M, Lagrange PH, Aucouturier P: IgG subclass distribution of antibody responses to protein and polysaccharide mycobacterial antigens in leprosy and tuberculosis patients. *Clin Exp Immunol* 111: 48 (1988)
138. Spiegelbert HL: Biological activities of Igs of different classes and subclasses. *Adv Immunol* 19: 259 (1974)

139. Spinas GA, Laffranchi R, Francoys I, David I, Richter C, Reinecke M: The early phase of glucose stimulated insulin secretion requires nitric oxide. *Diabetologia* 41: 292-299 (1998)
140. Spinas GA, Lehmann R: Der Diabetes mellitus: Diagnose, Klassifikation und Pathogenese. *Schweiz Med Forum* 20: 519-525 (2001)
141. Szopa TM, Titchener PA, Portwood ND, Taylor KW: Diabetes mellitus due to viruses – some recent developments. *Diabetologia* 36: 687-695 (1993)
142. Tchorzewski H, Glowacka E, Banasik M, Lewkowicz P, Szalapska-Zawodniak M: Activated T lymphocytes from patients with high risk of type I diabetes mellitus have different ability to produce interferon- γ , interleukin-6 and interleukin-10 and undergo anti-CD95 induced apoptosis after insulin stimulation. *Immunol Lett* 75: 225-234 (2001)
143. The JDF Combinatorial Autoantibody Assay Workshop (ICA 512/IA2, GAD, ICA, IAA and combinations) on: 14th Immunology of Diabetes Workshop Meeting, 1st Congress of the Immunology of Diabetes Society, 31.October - 3.November 1995, Italy
144. Tian J, Lehmann PV, Kaufman DL: Determinant spreading of T helper cell 2 (Th2) responses to pancreatic islet autoantigens. *J Exp Med* 186: 2039-2043 (1997)
145. Tian J, Olcott AP, Hanssen LR, Zekzer D, Middleton B, Kaufman DL: Infectious Th1 and Th2 autoimmunity in diabetes-prone mice. *Immunol Rev* 164: 119 (1998)
146. Tisch R, Yang XD, Singer SM, Liblau RS, Fugger L, McDevitt HO: Immune response to glutamic acid decarboxylase correlates with insulinitis in non-obese diabetic mice. *Nature* 366: 72 (1993)
147. Todd JA: Lawrence Lecture. The Emperor's new genes: 1993 RD Lawrence Lecture. *Diabet Med* 11: 6-16 (1994)
148. Torn C, Landin-Olsson M, Schersten B, Arnqvist H, Blohme G, Bjork E, Bolinder J, Eriksson J, Littorin B, Nystrom L, Sundkvist G, Lernmark A: Glutamic acid decarboxylase antibodies (GADA) is the most important factor for prediction of insulin therapy within 3 years in young adult diabetic patients not classified as Type 1 diabetes on clinical grounds. *Diabetes Metab Res Rev* 16: 442-447 (2000)
149. Torn C, Landin-Olson M, Lernmark A, Schersten B, Ostman J, Arnqvist HJ, Bjork E, Blohme G, Bolinder J, Eriksson J, Littorin B, Nystrom L, Sundkvist G: Combination of beta cell specific autoantibodies at diagnosis of diabetes in young adults reflects different courses of beta cell damage. *Autoimmunity* 33: 115-120 (2001)

150. Toyoda H, Formby B, Magalong D, Redford A, Chan E, Takei S, Charles MA: In situ islet cytokine gene expression during development of type I diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Immunol Lett* 39: 283-288 (1994)
151. Trembleau S, Penna G, Bosi E, Mortara A, Gately MK, Adorini L: Interleukin-12 administration induces T helper cells and accelerates autoimmune diabetes in NOD mice. *J Exp Med* 181: 817 (1995)
152. Tuomi T, Bjorses P, Falorni A, Partanen J, Perheentupa J, Lernmark A, Miettinen A: Antibodies to glutamic acid decarboxylase and insulin-dependent diabetes in patients with autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 1488-1494 (1996)
153. Tuomilehto J, Zimmet P, Mackay IR, Koskela P, Vidgren G, Toivanen L, Tuomilehto-Wolf E, Kohtamäki K, Stengard J, Rowley MJ: Antibodies to Glutamic Acid Decarboxylase as Predictor of Insulin-Dependent Diabetes mellitus before clinical onset of disease. *Lancet* 343: 1383-1385 (1994)
154. Turner R, Stratton I, Horton V, Manley S, Zimmet P, MacKay IR, Shattock M, Bottazzo GF, Holman R: Autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. UK Prospective Diabetes Study Group. *Lancet* 350: 1288-1293 (1997)
155. Valdes AM, McWeeney S, Thomson G: HLA class II DR-DQ amino acids and insulin-dependent diabetes mellitus: application of the haplotype method. *Am J Hum Genet* 60: 717-728 (1997)
156. Vandewalle CL, Decraene T, Schuit FC, De Leeuw IH, Pipeleers DG, Gorus FK: Insulin autoantibodies and high titer islet cell antibodies are preferentially associated with the HLA DQA1*0301-DQB1*0302 haplotype at clinical type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus before age 10 years, but not at onset between 10 and 40 years. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetologia* 36: 1155-1162 (1993)
157. Vardi P, Ziegler AG, Mathews JH, Dib S, Keller RJ, Ricker AT, Wolfsdorf JI, Herskowitz RD, Rabizadeh A, Eisenbarth GS: Concentration of insulin autoantibodies at onset of type I diabetes. Inverse log-linear correlation with age. *Diabetes Care* 11: 736-739 (1988)
158. Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, MacKay IR, Zimmet P, Egan M, Hulinska H, Hulinsky I, Silvestrini RA, Kamath S, Sharp T, Arundel T, Silink M: Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a population based study. *Diabetologia* 37: 1113-1120 (1994)

159. Virtanen SM, Hypponen E, Laara E, Vahasalo P, Kulmala P, Savola K, Rasanen L, Aro A, Knip M, Akerblom HK: Cow`s milk consumption, disease-associated autoantibodies and type 1 diabetes mellitus: a follow-up study in siblings of diabetic children. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabet Med* 15: 730-738 (1998)
160. Weets I, De Leeuw ICH, Du Caju MV, Rooman R, Keymeulen B, Mathieu C, Rottiers R, Daubresse JC, Rocour-Brumioul D, Pipeleers DG, Gorus FK; Belgian Diabetes Registry: The incidence of type 1 diabetes in the age group 0-39 years has not increased in Antwerp (Belgium) between 1989 and 2000: evidence for earlier disease manifestation. *Diabetes Care* 25: 840-846 (2002)
161. Welsh M, Welsh N, Bendtzen K, Mares J, Strandell E, Oberg C, Sandler S: Comparison of mRNA contents of interleukin-1 β and nitric oxide synthase in pancreatic islets isolated from female and male nonobese diabetic mice. *Diabetologia* 38: 153-160 (1995)
162. Welte T: Zytokine und obstruktive Atemwegserkrankungen. *Der Internist* 42: 64-74 (2001)
163. Widhe M, Ekerfelt C, Forsberg P, Bergstrom S, Ernerudt J: IgG subclasses in Lyme borreliosis: a study of specific IgG subclass distribution in an interferon-predominated disease. *Scand J Immunol* 47: 575 (1998)
164. Wiest-Ladenbrugger U, Hartmann R, Hartmann U, Berling K, Boehm BO, Richter W: Combined analysis and single-step detection of GAD65 and IA2 autoantibodies in IDDM can replace the histochemical islet cell antibody test. *Diabetes* 46: 565-571 (1997)
165. Williams AJ, Bingley PJ, Bonifacio E, Palmer JP, Gale EA: A novel micro-assay for insulin autoantibodies. *J Autoimmun* 10: 473-478 (1997)
166. Winter WE, Harris N, Schatz D: Type 1 diabetes islet autoantibody markers. *Diabetes Technol Ther* 4: 817-839 (2002)
167. Wucherpfennig KW, Eisenbarth GS: Type 1 diabetes. *Nat Immunol* 2: 767-768 (2001)
168. Xing Z: Current understanding of macrophage type 1 cytokine responses during intracellular infections. *Histol Histopathol* 15: 199-205 (2000)
169. Yokota I, Matsuda J, Naito E, Ito M, Shirna K, Kuroda Y: Comparison of GAD and ICA512/IA-2 antibodies at and after the onset of IDDM. *Diabetes Care* 21: 49-52 (1998)
170. Yoon JW, Ray UR: Perspectives on the role of viruses in insulin-dependent diabetes. *Diabetes Care* 8 Suppl 1: 39-44 (1985)

171. Yoon JW, Ihm SH, Kim KW: Viruses as a triggering factor of type 1 diabetes and genetic markers related to the susceptibility to the virus-associated diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 7: 39-44 (1989)
172. Yoon JW: The role of viruses and environmental factors in the induction of diabetes. *Curr Top Microbiol Immunol* 164: 95-123 (1990)
173. Yoon JW, Jun HS: Autoimmune destruction of pancreatic beta cells. *Am J Ther* 12: 580-591 (2005)
174. Zhao SP, Zeng LH: Elevated plasma levels of tumor necrosis factor in chronic heart failure with cachexia. *Int J Cardiol* 58: 257-261 (1997)
175. Zimmet PZ, Tuomi T, Rowley MJ, Knowles W, Cohen M, Lang DA: Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diabet Med* 11: 299-303 (1994)

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Hypothetisches Modell zur T1D-Entstehung	6
Abb. 2	Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay	18
Abb. 3	Zytokin-Assay	21
Abb. 4	Geschlechtsverteilung der Probanden	23
Abb. 5	Median, erstes und drittes Quartil der GAD65-Autoantikörper (detektiert mittels RIA) aller Patienten, der männlichen und der weiblichen Patienten	24
Abb. 6	Median, erstes und drittes Quartil der GAD65-Autoantikörper IgG_{gesamt} , $IgG1$ und $IgG4$ (ELISA) für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten	25
Abb. 7	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper IgG_{gesamt} (ELISA) und GAD65-Autoantikörper (RIA)	26
Abb. 8	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper $IgG1$ (ELISA) und GAD65-Autoantikörper (RIA)	27
Abb. 9	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper $IgG4$ (ELISA) und GAD65-Autoantikörper (RIA)	28
Abb. 10	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper (RIA) und T1D-Manifestationsalter	29
Abb. 11	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper IgG_{gesamt} (ELISA) und T1D-Manifestationsalter	30
Abb. 12	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper $IgG1$ (ELISA) und T1D-Manifestationsalter	31
Abb. 13	Bivariate Darstellung: GAD65-Autoantikörper $IgG4$ (ELISA) und T1D-Manifestationsalter	32

Abb. 14	Mediane Zytokinspiegel, erstes und drittes Quartil von MCP-1, MIP-1 β und IL-6 für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten	34
Abb. 15	Mediane Zytokinspiegel, erstes und drittes Quartil von G-CSF, IL-7, IL-8, IL-10 und IL-13 für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten	34
Abb. 16	Mediane Zytokinspiegel, erstes und drittes Quartil von TNF- α , IL-1 β und IL-5 für alle Patienten, männliche und weibliche Patienten	35
Abb. 17	Korrelationsplot Zytokinspiegel mit T1D-Manifestationsalter: G-CSF, MCP-1, MIP-1 β und IL-6	38
Abb. 18	Korrelationsplot Zytokinspiegel mit T1D-Manifestationsalter: GM-CSF, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β und IL-8	38
Abb. 19	Korrelationsplot Zytokinspiegel mit T1D-Manifestationsalter: IL-2, IL-7, IL-10 und IL-13	39
Abb. 20	Korrelationsplot Zytokinspiegel mit T1D-Manifestationsalter: IL-4, IL-5, IL-12 und IL-17	39

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Charakteristika der Typ 1 Diabetes Subklassen, T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter, T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter und Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA), und des Typ 2 Diabetes	2
Tab. 2	Auflistung der bei Typ 1 Diabetes entdeckten Autoantigene	7
Tab. 3	Zytokine (Klassenzuordnung, Produktionsort und Wirkungen)	12
Tab. 4	Merkmale (Erkrankungsalter, Konkordanz unter Zwillingen, HLA-Merkmale, Autoantikörper und Plasma-insulin) der verschiedenen T1D-Subklassen: T1D mit Manifestation im Kindes- und Jugendalter, T1D mit Manifestation im Erwachsenenalter, Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA)	13
Tab. 5	Zytokinwerte: Minimum, Maximum, Median, erstes und drittes Quartil und Referenzwerte (Min-Max; Median)	33
Tab. 6	Korrelation Zytokine mit Alter bei T1D-Manifestation – alle T1D-Patienten	36
Tab. 7	Korrelation Zytokine mit Alter bei T1D-Manifestation – Patienten mit Zytokinbestimmung bei T1D-Manifestation	37
Tab. 8	Korrelation der Zytokine untereinander für alle T1D-Patienten	40
Tab. 9	Korrelation der Zytokine untereinander für Patienten mit Zytokinbestimmung bei T1D-Manifestation	41
Tab. 10	Hauptkomponentenanalyse (Korrelationskoeffizienten)	42
Tab. 11	Faktorenanalyse (Korrelationskoeffizienten/Faktorenladungen)	43
Tab. 12	Multivariate Modelle – Korrelation der Zytokinspiegel mit GAD-Autoantikörper (GADA (RIA), GADA IgG _{gesamt} (ELISA), IgG1 (ELISA), IgG4 (ELISA))	45

Anhang

Patientendaten: Versuchscode, Glutamatdecarboxylase 65 (GAD65) -Antikörperlevel, Alter bei Probeentnahme, Manifestationsalter, Diabetesdauer, Geschlecht.
w = weiblich, m = männlich, n.b. = nicht bekannt

Versuchscode	GAD65 (U/ml)	Alter bei Probeentnahme	Manifestationsalter	Diabetesdauer	Geschlecht
1	66	17	17	2 Wochen	w
2	88	15	15	2 Wochen	w
3	79	17	17	2 Wochen	w
4	39	17	17	0 Tage	m
5	31	6	6	1 Monat	w
6	61	8	8	7 Monate	w
7	51	16	16	1 Woche	m
8	63	17	17	2 Wochen	m
9	63	17	17	0 Tage	w
10	44	12	11	10 Monate	w
11	49	17	17	0 Tage	w
12	51	12	12	1 Woche	w
13	38	21	12	9 Jahre	w
14	40	12	12	2 Monate	m
15	52	21	16	5 Jahre	m
16	53	17	17	2 Wochen	w
17	37	15	15	0 Tage	m
18	67	12	12	0 Tage	w
19	60	17	16	1 Jahr	w
20	53	16	16	0 Tage	w
21	67	18	18	0 Tage	w
22	55	19	19	1 Woche	w
23	36	17	11	6 Jahre	w
24	50	18	18	0 Tage	m
25	81	20	20	1 Woche	w
26	63,37	15	15	0 Tage	w
27	73,3	20	20	1 Woche	w
28	90,65	19	19	1 Woche	m
29	94,57	12	12	0 Tage	m
30	61,38	19	18	6 Monate	m
31	112	20	20	1 Woche	m
32	70	27	22	5 Jahre	w
33	80	23	23	1 Woche	m
34	130	26	26	3 Monate	w
35	73	22	22	0 Tage	w
36	57	27	27	0 Tage	n.b.
37	49	21	21	2 Monate	m
38	54	26	26	2 Monate	w
39	63	23	22	1 Jahr	w
40	92	30	30	0 Tage	w
41	75	27	21	6 Jahre	w
42	58	22	22	4 Monate	w
43	44	30	30	1 Woche	w
44	120	30	26	4 Jahre	w
45	57	22	22	2 Wochen	w
46	41	25	25	1 Woche	m
47	42	27	27	6 Monate	w
48	66	21	21	2 Wochen	m
49	74	29	29	2 Wochen	m
50	49	22	22	1 Woche	m
51	63	22	22	1 Woche	m
52	57	24	24	0 Tage	w
53	118	49	24	25 Jahre	w

54	62	28	28	0 Tage	m
55	56	30	30	0 Tage	w
56	71	23	22	1,5 Jahre	w
57	73	26	26	1 Monat	w
58	57	22	21	9 Monate	w
59	56	27	27	2 Wochen	w
60	43,37	33	30	3 Jahre	m
61	98,2	26	26	0 Tage	m
62	42,1	25	25	3 Wochen	m
63	59,9	30	30	1 Woche	w
64	51	29	29	1 Woche	w
65	53,3	25	25	1 Woche	w
66	49,16	30	30	0 Tage	w
67	116,5	21	21	0 Tage	w
68	68,1	22	21	6 Monate	w
69	83	22	22	1 Monat	m
70	50,27	28	27	6 Monate	w
71	72,58	25	25	0 Tage	w
72	71	27	27	0 Tage	m
73	105	30	29	8 Monate	w
74	52,68	49	29	20 Jahre	w
75	166	30	30	5 Monate	w
76	73	22	22	0 Tage	m
77	111	23	23	0 Tage	w
78	41,5	25	25	2 Wochen	m
79	63	34	34	4 Monate	m
80	109	41	36	5 Jahre	m
81	125	39	39	3 Monate	w
82	63	46	37	9 Jahre	m
83	83	35	35	0 Tage	m
84	64	34	34	2 Monate	m
85	64	40	39	6 Monate	m
86	64	36	36	0 Tage	w
87	65	37	37	1 Monat	w
88	76	32	32	0 Tage	w
89	>120	41	36	5 Jahre	m
90	45	37	35	2 Jahre	w
91	60	33	33	2 Monate	w
92	68	36	36	2 Monate	w
93	110	40	40	1 Monat	w
94	80	44	34	10 Jahre	w
95	46	39	39	0 Tage	m
96	43	37	37	0 Tage	m
97	>120	36	33	3 Jahre	m
98	75	35	32	3 Jahre	m
99	56	34	33	1 Jahr	w
100	102	38	37	1 Jahr	w
101	64	37	37	0 Tage	w
102	56	33	33	0 Tage	m
103	100	31	31	2 Monate	m
104	52,8	41	37	4 Jahre	m
105	46	36	34	2 Jahre	w
106	61	33	32	10 Monate	m
107	87,16	34	34	6 Monate	w
108	46,44	49	37	12 Jahre	m
109	88,47	34	34	0 Tage	w
110	44,3	36	36	1 Woche	w
111	47,8	39	39	2 Monate	m
112	90,87	33	33	1 Monat	w
113	98,49	33	32	1,5 Jahre	w
114	57,48	35	35	0 Tage	w
115	50,75	38	38	3 Monate	w
116	>120	38	31	7 Jahre	w
117	75,51	54	37	17 Jahre	w

118	52	39	39	0 Tage	m
119	72,5	44	40	4 Jahre	w
120	108	39	39	3 Wochen	w
121	47,5	33	33	0 Tage	w
122	78,2	33	33	0 Tage	w
123	101	39	35	4 Jahre	w
124	80	47	47	1 Woche	m
125	79	47	47	2 Wochen	m
126	115	45	43	2 Jahre	m
127	111	42	42	1 Woche	m
128	42	42	41	1 Jahr	m
129	71	46	46	2 Wochen	w
130	99	48	46	2 Jahre	w
131	87	50	45	5 Jahre	m
132	100	54	47	7 Jahre	m
133	64	44	42	2 Jahre	m
134	47	47	47	1 Woche	w
135	80	43	43	1 Woche	m
136	74	44	44	1 Woche	w
137	>120	61	49	12 Jahre	w
138	62	42	42	2 Wochen	w
139	70	48	47	1 Jahr	m
140	65	46	41	5 Jahre	m
141	71,4	52	50	2 Jahre	w
142	57	42	42	1 Woche	m
143	>120	50	50	2 Wochen	w
144	57,44	42	42	0 Tage	w
145	72	42	42	0 Tage	w
146	91	49	49	1 Monat	w
147	48	42	41	2 Monate	w
148	>120	41	41	0 Tage	m
149	63	55	46	9 Jahre	m
150	81,32	47	47	0 Tage	w
151	113	50	50	1 Monat	m
152	83,35	54	47	7 Jahre	m
153	43,51	44	41	3 Jahre	w
154	75,7	49	49	0 Tage	m
155	54,3	55	47	8 Jahre	m
156	50,7	57	48	9 Jahre	w
157	65,9	42	41	6 Monate	w
158	119	48	47	9 Monate	w
159	63,11	44	44	3 Monate	m
160	89,83	41	41	0 Tage	w
161	70,14	57	50	7 Jahre	w
162	88,62	43	42	1 Jahr	m
163	60,23	44	43	5 Monate	w
164	42,85	44	44	0 Tage	w
165	43,5	42	42	0 Tage	m
166	68,9	50	49	1 Monat	w
167	96,65	49	49	1 Monat	w
168	72,2	43	43	3 Wochen	m
169	81,1	50	50	2 Monate	w
170	77	75	66	9 Jahre	w
171	102	57	57	2 Wochen	w
172	51	61	60	6 Monate	w
173	54	71	66	5 Jahre	w
174	65	53	53	1 Monat	w
175	54	79	75	4 Jahre	w
176	>120	62	59	3 Jahre	w
177	34	56	56	3 Monate	w
178	40	54	52	2 Jahre	w
179	67	59	56	3 Jahre	w
180	59	64	62	2 Jahre	m
181	36	52	52	2 Monate	w

182	33	55	55	6 Monate	w
183	65	59	54	5 Jahre	w
184	66	56	54	2 Jahre	w
185	33	69	68	7 Monate	m
186	>120	52	52	3 Wochen	m
187	68	76	70	6 Jahre	m
188	85	64	64	3 Wochen	w
189	68	73	69	4 Jahre	m
190	49	64	55	9 Jahre	m
191	84	56	55	1,5 Jahre	w
192	33,2	52	52	2 Wochen	m
193	45	66	65	1 Jahr	w
194	47,73	58	56	2 Jahre	m
195	50,1	71	71	0 Tage	w
196	48,8	70	57	13 Jahre	w
197	85	59	58	6 Monate	m
198	63,41	61	60	10 Monate	w
199	77	75	72	3 Jahre	w
200	33	55	55	2 Wochen	w
201	83	69	60	9 Jahre	m
202	68,9	51	51	0 Tage	m
203	71,8	53	52	1 Jahr	w
204	>120	67	55	12 Jahre	m
205	95,38	67	55	12 Jahre	m
206	>120	64	64	1 Monat	w
207	84,81	63	58	5 Jahre	w
208	70,6	62	62	0 Tage	w
209	155,8	63	62	1,5 Jahre	w
210	100	63	63	3 Monate	w
211	40,4	47	47	0 Tage	w
212	104,54	70	70	0 Tage	n.b.
213	40,44	45	45	0 Tage	m
214	43,3	58	58	0 Tage	m
215	34,57	53	53	0 Tage	w
216	102	64	64	0 Tage	w
217	37,48	48	48	0 Tage	m
218	75,7	49	49	0 Tage	n.b.
219	78,5	59	59	0 Tage	n.b.
220	57,85	61	61	0 Tage	w
221	60,39	61	61	0 Tage	w
222	49	66	66	0 Tage	m
223	46	55	55	0 Tage	w
224	41,7	59	59	0 Tage	m
225	50,24	51	51	0 Tage	m
226	57,8	68	68	0 Tage	w
227	72,5	46	46	0 Tage	w
228	82,9	46	46	0 Tage	w
229	78,33	54	54	0 Tage	w
230	38,65	46	46	0 Tage	w
231	40,17	62	62	0 Tage	w
232	72,26	70	70	0 Tage	w
233	62,77	53	53	0 Tage	n.b.
234	63,28	48	48	0 Tage	w
235	99,87	55	55	0 Tage	w
236	112	49	49	0 Tage	w
237	49,9	52	52	0 Tage	w
238	83,7	72	72	0 Tage	m
239	76,8	62	62	0 Tage	m
240	63,7	63	63	0 Tage	m
241	76,2	54	54	0 Tage	w
242	64,4	45	45	0 Tage	w

Ergebnisse ELISA:

ID-Nr. = Identifikationsnummer, GAD = Glutamatdecarboxylase, Geb.Datum = Geburtsdatum, Manif.-Alter = Manifestationsalter, Ig = Immunglobulin
 U = Unit, ml = Milliliter, Opt. Dichte = Optische Dichte, Konz. = Konzentration, ng = Nanogramm, UU = U/ml Units, m = männlich, w = weiblich
 n.b. = nicht bekannt

Versuchscode	ID - Nr.	Name	GAD (U/ml)	Geb.-Datum	Alter bei Probeneinnahme	Manif.-Alter	Diabetesdauer	Geschlecht	IgG _{gesamt}			IgG1		IgG4			
									Opt. Dichte	Konz. in ng/ml	Mittelwert der Konz. in ng/ml	Opt. Dichte	Konz. in UU (U/ml-Units)	Mittelwert der Konz. in UU	Opt. Dichte	Konz. in UU (U/ml-Units)	Mittelwert der Konz. in UU
1	53	S. S.	66	06/81	17	17	2 Wochen	w	0,108	79,63	77,26	0,040	14,41	11,03	0,041	15,91	18,80
									0,104	74,89		0,035	7,65		0,045	21,68	
2	62	K. N.	88	01/83	15	15	2 Wochen	w	0,079	64,08	54,72	0,034	7,10	7,10	0,153	206,72	183,02
									0,067	45,36		0,034	7,10		0,126	159,32	
3	134	G. B.	79	07/81	17	17	2 Wochen	w	0,121	162,13	184,90	0,031	3,39	3,08	0,039	11,56	11,56
									0,149	207,66		0,030	2,77		0,039	11,56	
4	283	B. D.	39	07/81	17	17	frisch	m	0,103	68,59	70,52	0,031	4,60	4,60	0,042	21,76	20,97
									0,107	72,45		0,031	4,60		0,041	20,18	
5	406	B. C.	31	06/82	6	6	1 Monat	w	0,031	3,21	2,55	0,026	<1,00	<1,00	0,042	18,32	12,81
									0,029	1,89		0,026	<1,00		0,035	7,30	
6	862	D. R.	61	06/90	8	8	7 Monate	w	0,080	54,44	46,74	0,030	3,44	5,59	0,048	24,33	24,33
									0,066	39,03		0,035	7,73		0,048	24,33	
7	1176	K. J.	51	08/82	16	16	1 Woche	m	0,071	36,33	34,82	0,030	1,73	1,40	0,049	19,31	16,19
									0,067	33,31		0,028	1,07		0,044	13,07	
8	3127	B. V.	63	05/82	17	17	2 Wochen	m	0,224	155,09	141,10	0,034	3,26	8,59	0,060	24,86	22,89
									0,195	127,10		0,048	13,92		0,055	20,91	
9	3130	L. D.	63	08/82	17	17	frisch	w	0,642	578,02	512,53	0,051	16,97	12,28	0,068	28,55	28,78
									0,532	447,04		0,041	7,58		0,069	29,01	
10	3295	B. A.	44	08/88	12	11	10 Monate	w	0,086	44,90	45,96	0,027	1,25	1,44	0,046	19,00	14,53
									0,089	47,01		0,028	1,62		0,039	10,06	
11	3417	B. E.-M.	49	02/83	17	17	frisch	w	0,044	22,41	19,46	0,032	5,56	3,98	0,040	16,50	14,93
									0,040	16,50		0,028	2,40		0,038	13,36	
12	3447	K. L.	51	01/88	12	12	1 Woche	w	0,074	38,74	36,77	0,029	1,38	*	0,049	19,31	12,18
									0,069	34,79		0,027	<1,00		0,036	5,04	
13	3522	R. N.	38	10/79	21	12	9 Jahre	w	0,085	53,99	49,91	0,033	5,00	3,45	0,041	16,63	16,63
									0,076	45,83		0,029	1,89		0,041	16,63	
14	3528	M. P.	40	01/89	12	12	2 Monate	m	0,102	67,63	61,73	0,031	4,60	5,77	0,039	16,71	15,82
									0,089	55,83		0,033	6,94		0,038	14,92	
15	3554	B. T.	52	03/79	21	16	5 Jahre	m	0,064	31,18	30,18	0,030	1,73	1,40	0,109	75,74	72,04
									0,061	29,17		0,028	1,07		0,103	68,34	
16	3691	A. S.	53	06/83	17	17	2 Wochen	w	0,086	58,25	60,59	0,029	<1,00	*	0,044	10,90	8,89
									0,089	62,93		0,031	1,55		0,040	6,87	
17	3718	Sch. F.	37	04/86	15	15	frisch	m	0,035	7,30	6,15	0,025	<1,00	<1,00	0,037	10,08	17,99
									0,033	5,00		0,026	<1,00		0,048	25,89	
18	3731	P. E.	67	10/88	12	12	frisch	w	0,280	280,07	282,66	0,045	21,68	20,29	0,041	15,91	16,67
									0,285	285,25		0,043	18,90		0,042	17,42	
19	3951	Sch. C.	60	06/84	17	16	1 Jahr	w	0,102	84,96	84,22	0,028	2,30	2,07	0,063	36,23	31,12
									0,101	83,48		0,027	1,83		0,050	26,01	

20	4015	S. C.	53	07/85	16	16	frisch	w	0,052 0,054 0,100 0,075	20,69 22,97 70,25 44,67	21,83	0,032 0,031	1,91 1,55	1,73	0,045 0,045	12,05 12,05	12,05
21	4074	Sch. M.	67	02/84	18	18	frisch	w	0,100 0,075	70,25 44,67	57,46	0,046 0,040	22,93 14,41	18,67	0,043 0,040	18,90 14,41	16,66
22	4078	B. R.	55	08/82	19	19	1 Woche	w	0,061 0,062	28,88 29,72	29,30	0,029 0,028	< 1,00 < 1,00	< 1,00	0,038 0,038	5,25 5,25	5,25
23	4087	M. C.	36	12/84	17	11	6 Jahre	w	0,031 0,063	3,21 35,55	19,38	0,025 0,026	< 1,00 < 1,00	< 1,00	0,039 0,039	13,26 13,26	13,26
24	4158	K.-O. M.	50	12/83	18	18	frisch	m	0,035 0,034	4,33 3,89	4,01	0,028 0,025	1,07 < 1,00	*	0,035 0,034	4,33 3,69	4,01
25	4335	B. M.	81	04/82	20	20	1 Woche	w	0,180 0,179	252,1 250,79	251,45	0,038 0,052	10,23 27,92	19,08	0,043 0,038	17,35 10,23	13,79
26	5023	R. E.	63,37	04/88	15	15	frisch	w	0,087 0,073	38,27 30,89	34,58	0,029 0,028	1,44 1,17	1,31	0,047 0,046	12,93 11,95	12,44
27	5066	B. K.	73,3	02/83	20	20	1 Woche	w	0,054 0,050	34,02 30,13	32,08	0,029 0,031	2,67 4,42	3,55	0,052 0,046	32,01 26,69	29,35
28	5173	K. M.	90,65	02/85	19	19	1 Woche	m	0,350 0,311	516,59 447,57	482,08	0,042 0,098	18,29 103,28	60,79	0,037 0,036	10,84 9,50	10,17
29	5394	G. C.	94,57	03/82	12	12	frisch	m	0,153 0,147	206,72 196,41	201,57	0,034 0,038	7,10 12,25	9,68	0,086 0,070	77,38 49,54	63,46
30	5407	B. A.	61,38	07/85	19	18	6 Monate	m	0,036 0,037	8,94 10,03	9,44	0,028 0,028	2,30 2,30	2,30	0,047 0,047	23,28 23,28	23,28
31	5754	S. M.	112	01/85	20	20	1 Woche	m	0,179 0,174	248,81 241,08	244,95	0,032 0,032	5,09 5,09	5,09	0,050 0,053	27,37 29,90	28,64
32	60	F. S.M.	70	06/71	27	22	5 Jahre	w	0,100 0,073	60,39 39,39	49,89	0,042 0,039	16,54 11,95	14,25	0,044 0,041	19,58 14,98	17,28
33	135	V. T.	80	04/75	23	23	1 Woche	m	0,083 0,067	79,22 46,69	62,96	0,033 0,031	4,88 3,39	4,14	0,040 0,038	12,95 10,23	11,59
34	408	G. M.	130	10/72	26	26	3 Monate	w	0,197 0,182	275,24 253,36	264,30	0,058 0,043	34,70 19,79	27,25	0,045 0,040	22,57 15,23	18,90
35	545	R. K.	73	06/76	22	22	frisch	w	0,179 0,104	240,9 124,28	182,59	0,037 0,034	13,15 8,17	10,66	0,044 0,048	24,91 28,35	26,63
36	633	P. N.	57	05/71	27	27	frisch	n.b.	0,071 0,066	44,62 40,38	42,50	0,030 0,030	3,99 3,99	3,99	0,041 0,040	20,73 19,06	19,90
37	860	M. F.	49	04/77	21	21	2 Monate	m	0,035 0,036	9,04 10,41	9,73	0,031 0,030	4,61 3,77	4,19	0,036 0,039	10,41 14,92	12,67
38	946	C. S.	54	11/72	26	26	2 Monate	w	0,066 0,067	33,33 34,31	33,82	0,028 0,028	< 1,00 < 1,00	< 1,00	0,039 0,046	6,02 13,24	9,63
39	959	M. N.	63	12/75	23	22	1 Jahr	w	0,070 0,070	29,47 29,47	29,47	0,026 0,026	< 1,00 < 1,00	< 1,00	0,061 0,064	25,44 26,78	26,11
40	1022	Sch. U.	92	07/68	30	30	frisch	w	0,104 0,076	116,81 88,9	87,86	0,040 0,031	15,23 4,24	9,74	0,036 0,032	9,50 5,09	7,30
41	1363	S. N.	75	01/72	27	21	6 Jahre	w	0,068 0,066	53,39 50,48	51,94	0,032 0,030	9,84 7,13	8,49	0,055 0,050	36,85 31,86	34,36

42	2954	Sch. C.	58	08/77	22	22	4 Monate	w	0,061 0,059 0,052 0,040	36,43 34,93 25,20 11,25	35,68	0,029 0,028 0,030 0,029	3,12 2,39 2,04 2,52	2,76	0,040 0,040 0,044 0,041	19,06 19,06 16,39 12,49	19,06
43	3083	W. G.	44	12/69	30	30	1 Woche	w	0,040	11,25	18,23	0,030	2,52	2,28	0,041	12,49	14,44
44	3087	Sch. S.	120	01/70	30	26	4 Jahre	w	1,193 1,231	>1410,00 >1410,00	> 1410,00	0,711 0,603	1050,16 816,93	933,55	0,038 0,036	15,40 12,23	13,82
45	3168	K. C.	57	08/77	22	22	2 Wochen	w	0,073 0,075	46,40 48,22	47,31	0,031 0,028	4,99 2,39	3,69	0,042 0,041	22,27 20,73	21,50
46	3305	J. H.	41	01/75	25	25	1 Woche	m	0,082 0,044	49,96 24,39	37,18	0,028 0,030	2,13 3,65	2,89	0,036 0,037	11,45 13,15	12,30
47	3353	H. I.	42	11/72	27	27	6 Monate	w	0,089 0,088	55,83 54,96	55,40	0,031 0,029	4,60 2,82	3,71	0,041 0,042	20,18 21,76	20,97
48	3422	Z. T.	66	04/79	21	21	2 Wochen	m	0,329 0,265	332,37 264,76	298,57	0,078 0,055	47,37 29,44	38,41	0,051 0,048	26,96 24,99	25,98
49	3486	S. G.	74	06/71	29	29	2 Wochen	m	0,053 0,049	34,77 30,94	32,86	0,031 0,028	8,43 4,91	6,67	0,053 0,047	34,77 29,19	31,98
50	3535	H. G.	49	02/78	22	22	1 Woche	m	0,059 0,057	33,7 32,23	32,97	0,028 0,029	2,40 3,04	2,72	0,039 0,042	14,92 19,59	17,26
51	3536	B. A.	63	11/78	22	22	1 Woche	m	0,117 0,123	58,30 62,96	60,63	0,026 0,027	< 1,00 < 1,00	<1,00	0,054 0,051	19,97 16,97	18,47
52	3636	M. K.	57	10/76	24	24	frisch	w	0,047 0,035	26,90 10,37	18,64	0,029 0,033	3,12 7,41	5,27	0,042 0,045	22,27 25,67	23,97
53	3649	R. M.	118	07/51	49	24	25 Jahre	w	0,332 0,394	394,39 479,68	437,04	0,173 0,152	193,07 162,68	177,875	0,035 0,034	10,74 9,32	10,03
54	3681	M. D.	62	02/73	28	28	frisch	m	0,358 0,358	383,78 383,78	383,78	0,039 0,036	12,60 8,84	10,72	0,057 0,056	31,13 30,35	30,74
55	3870	B. B.	56	06/71	30	30	frisch	w	0,088 0,088	61,12 61,12	61,12	0,025 0,025	< 1,00 < 1,00	<1,00	0,044 0,042	24,78 22,27	23,53
56	3908	G. M.	71	04/78	23	22	1,5 Jahre	w	0,072 0,067	38,72 35,50	37,11	0,042 0,038	16,54 10,51	13,53	0,044 0,042	19,58 16,54	18,06
57	3911	H. S.	73	09/75	26	26	1 Monat	w	0,308 0,251	411,21 325,85	368,53	0,044 0,038	24,91 14,99	19,95	0,045 0,051	25,90 31,05	28,48
58	4123	Sch. M.	57	03/80	22	21	9 Monate	w	0,048 0,045	27,51 25,67	26,59	0,037 0,035	13,75 10,37	12,06	0,043 0,041	23,64 20,73	22,19
59	4170	C. B.	56	09/74	27	27	2 Wochen	w	0,080 0,076	49,57 44,35	46,96	0,029 0,027	< 1,00 < 1,00	< 1,00	0,036 0,037	3,89 4,54	4,22
60	4205	G. J.	43,37	07/68	33	30	3 Jahre	m	0,048 0,039	21,43 10,06	15,75	0,030 0,030	2,52 2,52	2,52	0,041 0,038	12,49 8,93	10,71
61	4212	H. M.	98,2	11/75	26	26	frisch	m	0,243 0,184	337,78 256,37	297,08	0,155 0,038	210,11 12,25	111,18	0,050 0,054	27,37 30,80	29,09
62	4242	B. J.	42,1	02/77	25	25	3 Wochen	m	0,058 0,057	32,82 32,21	32,52	0,030 0,028	3,65 2,13	2,89	0,040 0,036	18,48 11,45	14,97
63	4244	S. A.	59,9	02/72	30	30	1 Woche	w	0,158 0,146	141,01 127,12	134,07	0,029 0,026	3,12 1,26	2,19	0,042 0,042	22,27 22,27	22,27

64	4511	F. F.	51	12/73	29	29	1 Woche	w	0,107	73,24	74,49	0,031	2,14	1,76	0,044	13,07	11,89
65	4634	K. P.	53,3	09/77	25	25	1 Woche	w	0,109	75,74		0,029	1,38		0,042	10,71	
66	4635	B. L.-A.	49,16	02/73	30	30	frisch	w	0,068	35,31	31,30	0,028	<1,00	*	0,037	4,54	4,22
67	4814	B. A.	116,5	10/81	21	21	frisch	w	0,059	27,29		0,030	1,23		0,086	3,89	
68	4876	R. G.	68,1	05/81	22	22	6 Monate	w	0,055	30,80	31,16	0,031	4,61	3,83	0,038	13,36	13,36
69	5103	P. V.	83	12/81	22	22	1 Monat	m	0,056	31,51		0,029	3,04		0,038	13,36	
70	5146	S. M.	50,27	12/75	28	27	6 Monate	w	0,720	>1410,00	*	0,337	493,16	370,99	0,058	34,70	35,23
71	5156	G. S.	72,58	08/78	25	21	frisch	w	0,604	1118,73		0,179	248,81		0,059	35,75	
72	5319	B. A.	71	04/77	27	22	frisch	m	0,893	1233,79	1182,39	0,165	122,79	119,39	0,049	25,38	23,20
73	5340	B. M.	105	03/74	30	29	8 Monate	w	0,839	1130,98		0,158	115,98		0,045	21,01	
74	5421	S. D.	52,68	01/55	49	29	20 Jahre	w	0,442	696,42	675,66	0,116	141,54	110,48	0,056	32,69	28,79
75	5453	N. S.	166	11/73	30	30	5 Monate	w	0,422	654,9		0,087	79,41		0,047	24,88	
76	5564	H. D.	73	02/82	22	22	frisch	m	0,037	5,82	5,43	0,031	2,14	2,14	0,037	5,82	5,82
77	5665	Z. J.	111	02/81	23	23	frisch	w	0,036	5,04		0,031	2,14		0,037	5,82	
78	5699	S. S.	41,5	05/79	25	25	2 Wochen	m	0,243	316,36	308,38	0,039	16,86	15,01	0,044	24,91	31,67
79	76	G. M.	63	04/64	34	34	4 Monate	m	0,229	300,4		0,037	13,15		0,058	38,43	
80	411	K. P.	109	11/57	41	36	5 Jahre	m	0,416	386,05	337,96	0,105	64,85	45,68	0,045	21,01	21,01
81	468	H. C.	125	09/59	39	39	3 Monate	w	0,335	289,87		0,051	26,50		0,045	21,01	
82	2934	H. G.	63	08/53	46	37	9 Jahre	m	0,456	346,81	339,61	0,026	<1,00	<1,00	0,029	<1,00	<1,00
83	3005	U. S.	83	11/64	35	35	frisch	m	0,440	332,41		0,026	<1,00		0,029	<1,00	
84	3053	B. J.	64	05/65	34	34	2 Monate	m	0,065	32,39	35,44	0,026	<1,00	<1,00	0,041	7,78	6,52
85	3064	H. N.	64	10/59	40	39	6 Monate	m	0,071	38,48		0,026	<1,00		0,038	5,25	
									1,303	>1410,00	> 1410,00	1,384	>1410,00	> 1410,00	0,337	315,22	293,79
									1,195	>1410,00		1,279	>1410,00		0,285	272,36	
									0,056	36,16	33,15	0,032	5,51	6,84	0,045	25,90	30,49
									0,050	30,13		0,034	8,17		0,055	35,08	
									0,449	711,35	721,12	0,060	36,83	38,56	0,052	29,03	26,42
									0,458	730,88		0,063	40,28		0,046	23,80	
									0,050	28,16	27,89	0,027	1,55	2,60	0,038	14,92	17,55
									0,049	27,62		0,030	3,65		0,041	20,18	
									0,064	37,14	38,09	0,026	1,43	1,63	0,063	36,23	30,28
									0,066	39,03		0,027	1,83		0,048	24,33	
									0,356	426,73	414,56	0,219	255,91	259,72	0,037	13,80	10,30
									0,338	402,39		0,225	263,53		0,032	6,79	
									0,134	103,39	109,18	0,040	5,70	4,13	0,034	2,90	4,59
									0,141	114,96		0,033	2,55		0,041	6,28	
									0,055	29,58	29,97	0,026	1,43	1,63	0,059	32,76	29,39
									0,056	30,35		0,027	1,83		0,050	26,01	
									0,120	160,46	166,31	0,031	3,39	3,08	0,040	12,95	12,95
									0,127	172,15		0,030	2,77		0,040	12,95	
									0,224	221,50	188,41	0,049	25,76	18,64	0,048	24,99	21,95
									0,170	155,31		0,038	11,51		0,043	18,90	
									0,097	44,31	49,08	0,028	1,17	1,17	0,053	18,99	16,96
									0,111	53,84		0,028	1,17		0,049	14,93	

86	3292	G. R.	64	11/63	36	36	frisch	w	0,896 0,789	1033,31 815,91	924,61	0,168 0,151	102,31 86,93	94,62	0,057 0,055	22,67 20,91	21,79
87	3293	V.-Sch. C.	65	09/62	37	37	1 Monat	w	0,901 0,920	1245,85 >1285,65	*	0,273 0,268	272,88 267,79	270,34	0,784 0,813	1035,35 1084,22	1059,79
88	3470	M. P.	76	08/68	32	32	frisch	w	0,040 0,039	22,66 21,22	21,95	0,030 0,028	7,13 4,91	6,02	0,045 0,043	27,55 26,00	26,78
89	3478	H. M.	>120	12/59	41	36	5 Jahre	m	0,048 0,045	11,37 8,99	10,18	0,033 0,034	2,55 2,90	2,73	0,030 0,030	1,66 1,66	1,66
90	3589	W. M.	45	10/63	37	35	2 Jahre	w	0,068 0,056	33,56 27,26	30,41	0,027 0,027	1,25 1,25	1,25	0,042 0,043	13,77 15,08	14,43
91	3593	D. A.	60	10/67	33	33	2 Monate	w	0,052 0,071	27,39 44,10	35,75	0,029 0,028	2,83 2,30	2,57	0,059 0,054	32,76 28,83	30,80
92	3658	M. M.	68	02/65	36	36	2 Monate	w	0,688 0,639	863,55 772,77	828,16	0,901 0,877	1249,73 1202,48	1226,11	0,064 0,059	33,66 30,75	32,21
93	3661	Sch. J.	110	11/60	40	40	1 Monat	w	0,904 0,880	911,35 870,39	890,87	0,076 0,075	23,14 22,57	22,86	0,043 0,041	4,11 3,45	3,78
94	3755	Sch. E.-M	80	03/57	44	34	10 Jahre	w	0,247 0,167	329,21 234,39	281,80	0,037 0,040	8,98 12,95	10,97	0,049 0,036	25,23 7,82	16,53
95	3844	W. M.	46	01/62	39	39	frisch	m	0,071 0,052	35,29 25,20	35,29	0,028 0,025	1,62 <1,00	2,07	0,036 0,042	6,88 13,77	7,38
96	3866	B. J.	43	09/63	37	37	frisch	m	0,048 0,063	21,43 24,33	23,32	0,027 0,039	1,25 5,14	*	0,039 0,030	10,06 1,66	11,92
97	3967	F. S.	>120	08/65	36	33	3 Jahre	m	0,081 0,064	35,88 47,72	30,11	0,031 0,028	1,93 4,91	3,54	0,030 0,049	1,66 30,94	1,66
98	4075	P. B.	75	08/66	35	32	3 Jahre	m	0,053 0,043	34,77 9,80	41,25	0,028 0,028	4,91 <1,00	4,91	0,050 0,038	31,86 5,25	31,40
99	4154	B. B.	56	06/67	34	33	1 Jahr	w	0,045 1,539	12,05 >1410,00	10,93	0,027 1,455	<1,00 >1410,00	<1,00	0,038 0,048	5,25 27,09	5,25
100	4209	M. A.	102	01/64	38	37	1 Jahr	w	1,513 0,462	>1410,00 374,66	>1410,00	1,362 0,088	>1410,00 38,85	>1410,00	0,045 0,069	25,09 29,01	26,09
101	4221	B. M.	64	02/65	37	37	frisch	w	0,388 0,093	304,69 69,46	339,68	0,044 0,029	10,09 <1,00	24,47	0,065 0,055	27,22 24,00	26,12
102	4222	S. J.	56	01/69	33	33	frisch	m	0,087 0,133	59,78 135,09	64,62	0,030 0,105	1,23 89,70	*	0,062 0,028	29,72 3,09	26,86
103	4276	R. H.	100	11/70	31	31	2 Monate	m	0,145 0,040	152,55 6,87	>1410,00	0,038 0,026	15,40 <1,00	52,55	0,027 0,039	2,43 6,02	2,76
104	4285	K. K.	52,8	06/61	41	37	4 Jahre	m	0,047 0,047	14,46 14,46	10,67	0,027 0,027	<1,00 <1,00	<1,00	0,036 0,056	3,89 27,26	4,96
105	4355	L. B.	46	02/66	36	34	2 Jahre	w	0,794 0,733	1202,88 1073,57	1138,23	0,529 0,528	628,74 626,55	627,65	0,056 0,053	27,26 25,82	26,54
106	4508	S. A.	61	12/69	33	32	10 Monate	m	0,044 0,042	19,53 16,76	18,15	0,029 0,030	2,83 3,44	3,14	0,056 0,048	30,35 24,33	27,34
107	4555	M. M.	87,16	03/68	34	34	6 Monate	w	1,095 0,921	>1410,00 >1410,00	>1410,00	0,903 0,821	>1410,00 1371,89	*	0,038 0,033	2,61 <1,00	*

108	4580	H. G.	46,44	08/63	49	37	12 Jahre	m	0,036	10,41	9,73	0,026	1,39	1,20	0,042	19,59	18,83
									0,035	9,04		0,025	1,00		0,041	18,06	
109	4584	N. D.	88,47	10/68	34	34	frisch	w	0,200	232,44	230,70	0,173	199,35	102,95	0,036	1,41	*
									0,197	228,95		0,042	6,55		0,027	<1,00	
110	4934	S. C.	44,3	05/67	36	36	1 Woche	w	0,091	48,45	45,99	0,030	2,52	2,07	0,042	13,77	14,43
									0,084	43,52		0,028	1,62		0,043	15,08	
111	4936	M. G.	47,8	12/63	39	39	2 Monate	m	0,050	27,47	22,77	0,030	3,77	3,41	0,226	230,03	214,06
									0,041	18,06		0,029	3,04		0,199	198,09	
112	5118	F. M.	90,87	11/70	33	33	1 Monat	w	0,394	452,13	395,40	0,241	275,7	173,30	0,033	<1,00	*
									0,307	338,66		0,092	70,89		0,037	1,95	
113	5183	K. M.	98,49	11/70	33	32	1,5 Jahre	w	0,310	341,89	365,52	0,264	297,29	289,85	0,031	<1,00	<1,00
									0,348	389,14		0,248	282,40		0,035	<1,00	
114	5254	O. B.	57,48	08/68	35	35	frisch	w	0,065	39,57	38,39	0,028	2,39	3,19	0,049	28,13	25,20
									0,062	37,20		0,030	3,99		0,042	22,27	
115	5289	B. D.	50,75	09/65	38	38	3 Monate	w	0,110	77,00	66,40	0,030	1,73	1,40	0,039	7,58	5,35
									0,092	55,80		0,028	1,07		0,033	3,11	
116	5304	P. A.	>120	10/65	38	31	7 Jahre	w	1,574	>1410,00	> 1410,00	1,607	>1410,00	> 1410,00	0,057	19,44	20,74
									1,517	>1410,00		1,654	>1410,00		0,060	22,04	
117	5424	H. A.	75,51	11/49	54	37	17 Jahre	w	0,886	>1410,00	>1410,00	0,447	765,11	597,92	0,061	43,81	42,00
									0,745	>1410,00		0,289	430,73		0,058	40,19	
118	5513	C. C.	52	11/64	39	39	frisch	m	0,061	29,17	27,29	0,029	1,38	*	0,048	18,08	11,56
									0,055	25,41		0,026	<1,00		0,036	5,04	
119	5623	M. I.	72,5	07/60	44	40	4 Jahre	w	0,062	43,37	32,77	0,037	13,15	16,83	0,216	285,76	248,72
									0,042	22,16		0,041	20,50		0,158	211,68	
120	5679	S. M.	108	04/65	39	39	3 Wochen	w	1,068	1226,25	1265,65	0,360	264,01	223,81	0,040	3,15	3,46
									1,109	1305,04		0,273	183,61		0,042	3,77	
121	5701	K. N.	47,5	10/71	33	33	frisch	w	0,065	38,44	38,44	0,032	5,56	4,67	0,038	13,36	15,71
									0,065	38,44		0,030	3,77		0,041	18,06	
122	5713	K. N.	76,2	10/71	33	33	frisch	w	0,057	39,04	37,42	0,028	4,91	4,91	0,053	34,77	29,38
									0,054	35,79		0,028	4,91		0,041	23,99	
123	5755	J. I.	101	05/65	39	35	4 Jahre	w	0,590	792,59	783,46	0,298	350,37	346,13	0,030	4,71	3,90
									0,580	774,32		0,291	341,89		0,028	3,09	
124	56	L. W.	80	06/51	47	47	1 Woche	m	0,048	24,17	18,56	0,034	5,77	5,33	0,041	14,39	12,98
									0,040	12,95		0,033	4,88		0,039	11,56	
125	64	F. A.	79	12/51	47	47	2 Wochen	m	0,043	17,35	15,15	0,029	2,23	2,00	0,036	7,82	9,69
									0,040	12,95		0,027	1,77		0,039	11,56	
126	77	D. H.	115	11/53	45	43	2 Jahre	m	0,269	179,73	186,98	0,027	<1,00	*	0,032	1,34	1,34
									0,284	194,23		0,031	1,17		0,032	1,34	
127	700	S. G.	111	10/66	42	42	1 Woche	m	0,889	885,49	885,49	0,044	4,47	4,12	0,039	2,87	3,01
									0,889	885,49		0,042	3,77		0,040	3,15	
128	906	P. R.	42	02/57	42	41	1 Jahr	m	0,056	31,61	30,73	0,029	2,82	3,24	0,039	16,71	16,71
									0,053	29,85		0,030	3,65		0,039	16,71	
129	1085	W. A.	71	05/52	46	46	2 Wochen	w	0,107	66,67	64,41	0,040	13,44	13,44	0,048	24,54	16,85
									0,102	62,15		0,040	13,44		0,037	9,15	

130	1246	C. A.	99	07/50	48	46	2 Jahre	w	0,354 0,264	424,00 310,32	367,16	0,133 0,057	135,09 33,25	84,17	0,041 0,029	20,14 3,85	12,00
131	2952	Z. P.	87	08/49	50	45	5 Jahre	m	0,811 0,788	1344,47 1281,17	1312,82	0,764 0,785	1215,04 1272,90	1243,97	0,043 0,041	7,90 5,35	6,63
132	2985	L. M.	100	10/45	54	47	7 Jahre	m	0,046 0,039	25,87 17,01	21,44	0,033 0,027	8,00 2,43	5,22	0,027 0,025	2,43 1,40	1,92
133	3071	Z. W.	64	07/55	44	42	2 Jahre	m	0,159 0,128	94,17 67,00	80,59	0,030 0,029	1,73 1,44	1,59	0,057 0,049	22,87 14,93	18,80
134	3426	E. F.	47	01/53	47	47	1 Woche	w	0,061 0,058	35,23 32,96	34,10	0,027 0,025	1,85 1,00	1,43	0,051 0,046	28,11 24,89	26,40
135	3435	S. C.	80	11/57	43	43	1 Woche	m	0,091 0,076	99,58 63,37	81,48	0,033 0,034	4,88 5,77	5,33	0,036 0,036	7,82 7,82	7,82
136	3578	J. P.	74	04/56	44	44	1 Woche	w	0,090 0,092	93,52 97,92	95,72	0,037 0,035	13,15 9,71	11,43	0,045 0,046	25,90 26,69	26,30
137	3603	O. E.	>120	03/40	61	49	12 Jahre	w	0,790 0,945	1017,04 >1410,00	*	0,828 0,884	1115,08 1269,95	1192,52	0,049 0,047	12,21 10,55	11,38
138	3724	K. A.	62	05/59	42	42	2 Wochen	w	0,119 0,097	109,08 77,6	93,34	0,033 0,029	5,76 2,83	4,30	0,052 0,056	27,39 30,35	28,87
139	3733	K. K.	70	12/52	48	47	1 Jahr	m	0,343 0,328	298,69 282,28	290,49	0,050 0,042	26,00 16,54	21,27	0,054 0,044	28,04 19,58	23,81
140	3781	K. R.	65	05/55	46	41	5 Jahre	m	0,109 0,103	80,83 73,72	77,28	0,051 0,041	26,96 15,91	21,44	0,045 0,072	21,68 42,07	31,88
141	3805	H. I.	71,4	11/48	52	50	2 Jahre	w	0,338 0,260	462,62 337,12	399,87	0,128 0,053	165,45 33,00	99,23	0,068 0,058	51,84 38,43	45,14
142	3883	P. T.	57	01/59	42	42	1 Woche	m	0,460 0,455	493,80 486,69	490,25	0,033 0,036	7,41 12,02	9,72	0,043 0,043	23,64 23,64	23,64
143	3963	W. L.	>120	04/51	50	50	2 Wochen	w	0,391 0,256	367,66 246,56	307,11	0,106 0,111	61,23 67,83	64,53	0,043 0,038	7,57 4,63	6,10
144	4002	W. A.	57,44	09/59	42	42	frisch	w	0,080 0,082	52,97 54,95	53,96	0,029 0,029	3,12 3,12	3,12	0,041 0,038	20,73 15,52	18,13
145	4010	E. M.	72	09/59	42	42	frisch	w	0,116 0,084	146,17 80,73	113,45	0,039 0,034	16,86 8,17	12,52	0,054 0,051	34,02 31,05	32,54
146	4079	B. E.	91	07/52	49	49	1 Monat	w	0,072 0,053	41,95 24,37	33,16	0,027 0,030	<1,00 <1,00	<1,00	0,029 0,034	<1,00 <1,00	<1,00
147	4127	C. M.	48	02/60	42	41	2 Monate	w	0,106 0,098	82,68 72,76	77,72	0,029 0,030	3,04 3,77	3,41	0,038 0,037	13,36 13,36	13,36
148	4288	B. T.	>120	09/60	41	41	frisch	m	0,088 0,090	41,73 43,57	42,65	0,030 0,030	1,66 8,26	4,96	0,037 0,039	4,14 5,14	4,64
149	4362	R. E.-D.	63	07/47	55	46	9 Jahre	m	0,041 0,039	15,35 12,60	13,98	0,030 0,029	3,44 2,83	3,14	0,060 0,053	33,60 28,10	30,85
150	4447	B. U.	81,32	05/55	47	47	frisch	w	0,045 0,033	20,27 4,88	12,58	0,035 0,037	6,74 8,98	7,86	0,043 0,039	17,35 11,56	14,46
151	4521	Sch.R.	113	01/53	50	50	1 Monat	m	1,121 0,738	1327,77 662,78	995,28	0,036 0,033	2,12 1,51	1,82	0,051 0,050	7,51 7,02	7,27

152	4582	K. W.	83,35	11/48	54	47	7 Jahre	m	0,612 0,552	1142,08 965,55	1053,82	0,107 0,185	123,44 257,86	190,65	0,043 0,044	19,79 21,22	20,51
153	4655	S. K.	43,51	09/58	44	41	3 Jahre	w	0,967 0,848	>1265,65 >1265,65	>1265,65	0,470 0,431	510,98 444,04	477,51	0,043 0,044	15,08 16,39	15,74
154	4808	K. B.	75,7	07/54	49	49	frisch	m	0,048 0,052	30,06 33,77	31,92	0,032 0,031	9,84 8,43	9,14	0,067 0,054	51,92 35,79	43,86
155	4848	P. B.	54,3	03/48	55	47	8 Jahre	m	0,048 0,050	15,71 18,23	16,97	0,026 0,028	<1,00 <1,00	<1,00	0,043 0,036	9,80 3,89	6,85
156	4878	R. L.	50,7	02/46	57	48	9 Jahre	w	0,038 0,035	6,66 4,33	5,50	0,033 0,031	3,11 2,14	2,63	0,038 0,034	6,66 3,69	5,18
157	4998	D.-W. L.	65,9	07/62	42	41	6 Monate	w	0,177 0,161	164,17 143,93	154,05	0,065 0,040	36,45 14,41	25,43	0,041 0,046	15,91 22,93	19,42
158	5054	M. N.	119	08/55	48	47	9 Monate	w	0,340 0,356	405,07 426,73	415,90	0,228 0,129	267,29 126,83	198,06	0,027 0,028	2,43 3,09	2,76
159	5119	K. G.	63,11	07/59	44	44	3 Monate	m	0,079 0,078	33,90 33,39	33,65	0,034 0,030	3,26 1,73	2,50	0,048 0,046	13,92 11,95	12,94
160	5188	Z. A.	89,83	07/62	41	41	frisch	w	0,349 0,231	390,46 265,85	328,16	0,227 0,074	261,80 44,31	153,06	0,033 0,035	<1,00 <1,00	<1,00
161	5243	F. M.	70,14	06/46	57	50	7 Jahre	w	0,087 0,085	49,59 48,04	48,82	0,044 0,041	19,58 14,98	17,28	0,061 0,052	31,89 27,01	28,45
162	5249	S. K.	88,62	05/60	43	42	1 Jahr	m	0,707 0,348	1059,65 389,14	724,40	0,441 0,243	521,05 277,63	399,34	0,035 0,032	<1,00 <1,00	<1,00
163	5292	W. A.	60,23	02/60	44	43	5 Monate	w	0,116 0,109	105,04 95,24	100,14	0,033 0,031	5,76 4,13	4,95	0,050 0,049	26,01 25,25	25,63
164	5392	M. H.	42,85	02/60	44	44	frisch	w	0,050 0,048	28,16 27,08	27,62	0,031 0,029	4,60 2,82	3,71	0,038 0,030	14,92 14,92	14,92
165	5517	H. V.	43,5	10/62	42	42	frisch	m	0,047 0,049	20,24 22,54	21,39	0,029 0,030	2,04 2,52	2,28	0,040 0,036	11,25 6,88	9,07
166	5537	A. V.	66,9	09/54	50	49	1 Monat	w	0,676 0,470	866,14 459,82	662,98	0,125 0,130	83,88 88,81	86,35	0,062 0,049	32,47 25,38	28,93
167	5593	S. O.	96,65	03/65	49	49	1 Monat	w	1,612 1,545	>1410,00 >1410,00	>1410,00	1,123 1,077	>1410,00 >1410,00	>1410,00	0,050 0,051	19,89 21,55	20,72
168	5724	B. R.	72,2	12/61	43	43	3 Wochen	m	0,070 0,062	54,96 43,37	49,17	0,038 0,033	14,99 6,76	10,88	0,053 0,048	33,00 28,55	30,68
169	5804	K. A.	81,1	08/54	50	50	2 Monate	w	0,099 0,099	120,4 120,4	120,40	0,033 0,069	4,88 50,02	27,45	0,043 0,041	17,35 14,39	15,87
170	287	K. A.	77	06/23	75	66	9 Jahre	w	1,083 0,977	>1410,00 >1410,00	>1410,00	0,286 0,501	425,25 912,43	668,84	0,055 0,056	36,85 37,93	37,39
171	546	Sch. B.	102	09/41	57	57	2 Wochen	w	0,378 0,178	457,13 200,22	328,68	0,421 0,192	518,56 219,89	369,23	0,036 0,035	12,23 10,74	11,49
172	1171	P.-G.-U.	51	03/37	61	60	6 Monate	w	0,064 0,064	31,18 31,18	31,18	0,031 0,031	2,14 2,14	2,14	0,046 0,041	15,56 9,61	12,59
173	1186	D. L.	54	04/28	71	66	5 Jahre	w	0,157 0,157	166,59 166,59	166,59	0,028 0,030	<1,00 1,23	*	0,041 0,039	7,78 6,02	6,90

174	1241	H. E.	65	02/46	53	53	1 Monat	w	0,190	180,54	174,25	0,056	30,09	32,90	0,047	24,04	26,74
									0,180	167,96		0,064	35,70		0,055	29,44	
175	2951	W. H.	54	11/20	79	75	4 Jahre	w	0,074	41,91	38,11	0,029	<1,00	*	0,037	4,54	4,54
									0,067	34,31		0,030	1,23		0,037	4,54	
176	2983	B. V.	>120	02/37	62	59	3 Jahre	w	1,270	>1410,00	> 1410,00	1,214	>1410,00	> 1410,00	0,058	20,33	19,89
									1,280	>1410,00		1,241	>1410,00		0,057	19,44	
177	3008	S. H.	34	10/43	56	56	3 Monate	w	0,048	25,89	22,92	0,028	1,38	2,72	0,039	13,26	9,13
									0,043	19,95		0,032	4,05		0,033	5,00	
178	3105	S. R.	40	02/46	54	52	2 Jahre	w	0,110	75,40	74,42	0,035	9,82	5,98	0,060	34,07	32,55
									0,108	73,43		0,028	2,13		0,055	31,02	
179	3216	S. E.	67	10/40	59	56	3 Jahre	w	0,145	124,02	101,23	0,050	26,37	23,35	0,063	34,95	31,57
									0,107	78,44		0,044	20,33		0,053	28,18	
180	3306	P. J.	59	09/35	64	62	2 Jahre	m	0,260	252,85	248,24	0,031	4,99	4,06	0,043	23,64	22,19
									0,251	243,63		0,029	3,12		0,041	20,73	
181	3363	L. R.	36	04/48	52	52	2 Monate	w	0,065	37,01	32,94	0,028	1,89	1,64	0,040	14,93	13,28
									0,053	28,86		0,028	1,38		0,038	11,63	
182	3378	B. R.	33	02/45	55	55	6 Monate	w	0,103	72,57	86,34	0,031	3,21	11,58	0,082	51,18	38,83
									0,127	100,10		0,043	19,95		0,049	26,47	
183	3406	T. S.	65	02/41	59	54	5 Jahre	w	0,334	337,89	342,92	0,090	59,23	52,40	0,081	50,18	44,09
									0,343	347,94		0,076	45,56		0,067	38,00	
184	3413	D. A.	66	09/44	56	54	2 Jahre	w	0,067	38,00	31,50	0,047	24,04	17,09	0,046	22,93	22,31
									0,048	24,99		0,037	10,14		0,045	21,68	
185	3450	G. J.	33	06/31	69	68	7 Monate	m	0,035	7,30	6,70	0,029	1,89	4,60	0,045	22,88	17,26
									0,034	6,09		0,035	7,30		0,038	11,63	
186	3476	P. U.	>120	08/48	52	52	3 Wochen	m	0,159	141,30	148,89	0,056	18,54	13,77	0,039	5,14	6,03
									0,172	156,48		0,045	8,99		0,042	6,91	
187	3632	B. P.	68	01/25	76	70	6 Jahre	m	0,145	103,5	81,51	0,035	6,72	5,29	0,047	23,52	19,25
									0,099	59,52		0,032	3,86		0,041	14,98	
188	3639	V. D.	85	01/37	64	64	3 Wochen	w	0,246	280,5	245,01	0,152	171,5	155,73	0,097	79,88	57,72
									0,181	209,52		0,129	139,96		0,066	35,55	
189	3818	P. F.	68	10/27	73	69	4 Jahre	m	0,121	79,96	82,91	0,042	16,54	14,25	0,045	21,01	18,00
									0,127	85,85		0,039	11,95		0,041	14,98	
190	3832	H. M.	49	06/37	64	55	9 Jahre	m	0,075	47,42	46,47	0,026	1,39	2,58	0,039	14,92	16,49
									0,073	45,52		0,030	3,77		0,041	18,06	
191	4076	M. E.	84	08/45	56	55	1,5 Jahre	w	0,985	>1410,00	>1410,00	0,876	>1410,00	*	0,038	12,25	13,74
									1,069	>1410,00		0,414	638,72		0,040	15,23	
192	4238	G. W.	33,2	08/49	52	52	2 Wochen	m	0,043	19,95	18,29	0,028	1,38	1,64	0,038	11,63	9,47
									0,041	16,63		0,029	1,89		0,035	7,30	
193	4367	M. A.	45	10/36	66	65	1 Jahr	w	0,443	463,87	468,10	0,030	2,52	2,52	0,050	23,55	24,00
									0,448	472,32		0,030	2,52		0,051	24,44	
194	4554	L. R.	47,73	11/44	58	56	2 Jahre	m	0,076	48,39	47,43	0,031	4,61	4,61	0,043	21,05	19,56
									0,074	46,46		0,031	4,61		0,041	20,06	
195	4718	P. T.	50,1	07/31	71	71	frisch	w	0,811	1226,00	1240,99	0,099	63,61	58,13	0,050	20,51	18,04
									0,827	1255,97		0,089	52,65		0,046	15,56	

196	4761	I. R.	48,8	11/32	70	57	13 Jahre	w	0,731	1109,81	1100,56	0,184	179,8	182,26	0,046	24,89	25,46
									0,721	1091,3		0,188	184,72		0,048	26,22	
197	4822	K. E.	85	12/43	59	58	6 Monate	m	0,224	258,72	233,50	0,082	54,84	43,38	0,038	2,61	*
									0,180	208,27		0,062	31,82		0,030	<1,00	
198	4835	H. M.	63,41	01/42	61	60	10 Monate	w	0,913	1071,59	981,46	0,479	391,63	364,79	0,078	33,39	34,44
									0,827	891,33		0,424	337,95		0,082	35,49	
199	4879	A. I.	77	04/28	75	72	3 Jahre	w	1,192	>1410,00	>1410,00	0,373	595,82	581,23	0,074	62,89	57,41
									1,096	>1410,00		0,359	566,64		0,067	51,92	
200	4883	S. A.	33	04/48	55	55	2 Wochen	w	0,051	27,64	27,35	0,024	<1,00	<1,00	0,041	16,63	11,36
									0,050	27,05		0,025	<1,00		0,034	6,09	
201	4893	U. K.-D.	83	01/34	69	60	9 Jahre	m	1,297	>1410,00	>1410,00	0,333	454,88	658,14	0,064	42,08	38,74
									0,930	>1410,00		0,542	861,39		0,059	35,39	
202	5104	I. V.	68,9	05/52	51	51	frisch	m	0,113	72,26	76,60	0,051	26,50	22,29	0,048	24,54	22,06
									0,122	80,93		0,043	18,08		0,044	19,58	
203	5313	Z. C.	71,8	02/51	53	52	1 Jahr	w	0,085	82,81	82,81	0,040	18,72	10,70	0,053	33,00	33,00
									0,085	82,81		0,029	2,67		0,053	33,00	
204	5393	L. P.	>120	06/37	67	55	12 Jahre	m	1,574	>1410,00	>1410,00	1,509	>1410,00	>1410,00	0,063	24,33	21,89
									1,553	>1410,00		1,391	>1410,00		0,057	19,44	
205	5400	H. M.	95,38	06/37	67	55	12 Jahre	m	0,097	79,88	80,82	0,098	81,75	43,55	0,028	<1,00	*
									0,098	81,75		0,041	5,35		0,036	1,41	
206	5409	V. I.	>120	04/40	64	64	1 Monat	w	0,265	254,84	255,29	0,044	8,26	4,96	0,062	23,61	25,44
									0,266	255,74		0,030	1,66		0,068	27,26	
207	5430	K. W.	84,81	01/41	63	58	5 Jahre	w	1,173	>1410,00	>1410,00	0,693	1022,22	912,50	0,041	5,35	3,38
									1,023	>1410,00		0,601	802,77		0,036	1,41	
208	5707	K. M.	70,6	01/42	62	62	frisch	w	0,238	193,59	205,85	0,042	16,54	20,03	0,052	27,01	23,30
									0,264	218,1		0,047	23,52		0,044	19,58	
209	5735	H. M.	155,8	08/41	63	62	1,5 Jahre	w	1,052	>1410,00	>1410,00	0,374	349,06	339,06	0,040	5,70	4,92
									0,996	>1410,00		0,353	329,05		0,037	4,14	
210	5758	T. B.	100	07/41	63	63	3 Monate	w	0,537	699,42	>1410,00	0,242	284,42	155,15	0,035	10,74	8,22
									0,268	314,95		0,046	25,87		0,031	5,70	
211	4468	B. U.	40,4	05/55	47	47	frisch	w	0,038	14,92	14,04	0,029	2,82	4,88	0,040	18,48	17,60
									0,037	13,15		0,033	6,94		0,039	16,71	
212	4482	R. H.	104,54	12/32	70	70	frisch	n.b.	1,055	1201,00	1119,08	0,120	43,16	40,46	0,040	3,15	3,46
									0,971	1037,16		0,110	37,76		0,042	3,77	
213	4546	S. P.	40,44	06/57	45	45	frisch	m	0,040	18,48	18,48	0,027	1,55	3,63	0,036	11,45	14,08
									0,040	18,48		0,032	5,70		0,039	16,71	
214	4547	G. B.	43,3	12/44	58	58	frisch	m	0,171	122,66	114,01	0,029	2,04	1,83	0,040	11,25	10,09
									0,154	105,35		0,028	1,62		0,038	8,93	
215	4570	P. K.	34,57	03/49	53	53	frisch	w	0,047	25,12	24,61	0,026	<1,00	*	0,038	11,63	10,13
									0,046	24,10		0,035	7,30		0,036	8,63	
216	4596	W. M.	102	10/38	64	64	frisch	w	0,935	>1410,00	*	0,613	836,12	539,51	0,032	6,79	4,94
									0,771	1187,62		0,209	242,90		0,028	3,09	
217	4649	B. W.	37,48	09/54	48	48	frisch	m	0,116	87,32	77,77	0,031	3,21	2,30	0,040	14,93	13,28
									0,099	68,21		0,028	1,38		0,038	11,63	

218	4813	K. B.	75,7	07/54	49	49	frisch	n.b.	0,054 0,050 0,090 0,101 1,130 0,362	35,79 31,86 96,96 125,32 >1265,65 >1265,65	33,83	0,036 0,046 0,033 0,031 0,104 0,109	16,30 28,36 4,88 3,39 78,99 84,83	22,33	0,069 0,054 0,042 0,043 0,052 0,053	54,89 35,79 17,35 30,05 30,71	45,34
219	4821	K. B.	78,5	12/43	59	59	frisch	n.b.	0,090 0,101 1,130 0,362	96,96 125,32 >1265,65 >1265,65	111,14	0,033 0,031 0,104 0,109	4,88 3,39 78,99 84,83	4,14	0,042 0,043 0,052 0,053	15,86 17,35 30,05 30,71	16,61
220	4837	S. E.	57,85	12/41	61	61	frisch	w	1,130 0,362	>1265,65 >1265,65	>1265,65	0,104 0,109	78,99 84,83	81,91	0,052 0,053	30,05 30,71	30,38
221	4838	H. M.	60,39	01/42	61	61	frisch	w	0,846 0,822	1236,03 1168,52	1202,28	0,340 0,349	364,90 374,30	369,60	0,059 0,065	32,76 38,08	35,42
222	4885	S. H.	49	04/37	66	66	frisch	m	0,139 0,119	123,51 99,05	111,28	0,028 0,029	2,40 3,04	2,72	0,046 0,045	24,69 23,63	24,16
223	4890	S. A.	46	04/48	55	55	frisch	w	0,078 0,076	39,57 38,32	38,95	0,030 0,030	2,52 2,52	2,52	0,042 0,046	13,77 19,00	16,39
224	4919	D. W.	41,7	01/44	59	59	frisch	m	0,069 0,062	40,09 35,35	37,72	0,030 0,030	3,65 3,65	3,65	0,041 0,042	20,18 21,76	20,97
225	4949	R. W.	50,24	09/52	51	51	frisch	m	0,082 0,082	45,77 45,77	45,77	0,032 0,031	2,59 2,14	2,37	0,036 0,037	5,04 5,82	5,43
226	4976	E. R.	57,8	02/35	68	68	frisch	w	0,864 0,704	897,29 1025,14	961,22	0,056 0,058	32,77 34,2	33,49	0,048 0,043	27,51 23,64	25,58
227	4987	B. E.	72,5	08/57	46	46	frisch	w	0,067 0,064	50,34 46,05	48,20	0,034 0,033	8,17 6,76	7,47	0,050 0,047	30,13 27,51	28,82
228	5014	H. E.	82,9	06/57	46	46	frisch	w	0,155 0,075	216,84 61,3	139,07	0,030 0,030	2,77 2,77	2,77	0,061 0,052	37,92 27,92	32,92
229	5029	P. U.	78,33	09/49	54	54	frisch	w	0,870 1,088	>1410,00 >1410,00	>1410,00	0,542 0,353	1043,62 554,36	798,99	0,047 0,041	29,19 23,99	26,59
230	5047	H. D.	38,65	09/57	46	46	frisch	w	0,185 0,195	189,41 181,52	175,47	0,035 0,031	7,30 3,21	5,26	0,041 0,036	16,63 8,63	12,63
231	5085	P. A.	40,17	07/41	62	62	frisch	w	0,052 0,038	29,28 14,92	22,10	0,028 0,033	2,13 6,94	4,54	0,045 0,051	25,35 28,72	27,04
232	5143	K. E.	72,26	03/33	70	70	frisch	w	0,099 0,101	113,48 117,86	115,67	0,048 0,034	28,35 8,17	18,26	0,052 0,055	32,01 35,08	33,55
233	5264	M. M.	62,77	06/50	53	53	frisch	n.b.	0,135 0,129	131,49 122,94	127,22	0,027 0,028	1,83 2,30	2,07	0,055 0,048	29,58 24,33	26,96
234	5381	M. W.	63,28	11/55	48	48	frisch	w	0,050 0,048	15,95 13,92	14,94	0,032 0,029	2,42 1,44	1,93	0,044 0,042	10,09 8,38	9,24
235	5398	B. M.	99,87	07/49	55	55	frisch	w	0,084 0,078	59,95 52,87	> 1410,00	0,122 0,029	117,45 3,85	60,65	0,028 0,025	3,09 1,40	2,25
236	5519	E. M.	112	05/55	49	49	frisch	w	0,139 0,125	55,35 46,11	50,73	0,028 0,030	<1,00 1,02	*	0,031 0,032	1,17 1,34	1,26
237	5605	T. G.	49,9	01/52	52	52	frisch	w	0,070 0,066	35,55 32,59	34,07	0,027 0,026	<1,00 <1,00	<1,00	0,045 0,034	14,30 3,69	9,00
238	5630	W. K.	83,7	10/52	72	72	frisch	m	0,047 0,037	24,88 10,84	17,86	0,046 0,039	23,8 13,72	18,76	0,044 0,044	21,22 21,22	21,22
239	5643	S. J.	76,8	01/42	62	62	frisch	m	0,088 0,087	89,38 87,32	88,35	0,031 0,031	8,43 8,43	8,43	0,046 0,046	28,36 28,36	28,36

240	5672	S. W.	63,7	12/41	63	63	frisch	m	0,175	108,58	83,44	0,033	2,82	*	0,064	26,78	28,36		
									0,117	58,30		0,027	< 1,00		0,071	29,94			
241	5683	S. M.	76,2	11/50	54	54	frisch	w	0,144	197,57	176,85	0,059	41,36	44,54	0,051	32,80	31,43		
									0,121	166,13		0,064	47,72		0,048	30,06			
242	5736	K. S.	64,4	12/59	45	45	frisch	w	0,076	45,56	40,63	0,035	7,65	7,65	0,048	24,99	20,45		
									0,064	35,7		0,035	7,65	7,65	0,041	15,91			
									Ak 1:29									Ak 1:75	
									Serum 1:1000									Serum 1:10	

Erklärungen: * = nicht ermittelbar

- Nr. 1-31 = 0-20 Jahre (Bad Mergentheim)
- Nr. 32-78 = 21-30 Jahre (Bad Mergentheim)
- Nr. 79-123 = 31-40 Jahre (Bad Mergentheim)
- Nr. 124-169 = 41-50 Jahre (Bad Mergentheim)
- Nr. 170-210 = älter als 51 Jahre (Bad Mergentheim)
- Nr. 211-242 = älter als 45 Jahre (ADBW)

Ergebnisse Cytokin-Assay

ID-Nr. = Identifikationsnummer, Manif.-Alter = Manifestationsalter, m = männlich, w = weiblich, n.b. = nicht bekannt, IL = Interleukin, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor alpha
 IFN- γ = Interferon gamma, GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor, G-CSF = Granulozyten koloniestimulierender Faktor,
 MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein, MIP-1 β = Makrophagen inflammatorisches Protein,

Versuchscode	ID - Nr.	Alter bei Probenentnahme	Manif.-Alter	Geschlecht	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12	IL-13	IL-17	TNF- α	IFN- γ	GM-CSF	G-CSF	MCP-1	MIP-1 β
1	53	17	17	w	*0.13	5,45	0OR <	*0.61	22,06	6,48	3,45	4,77	2,01	4,62	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	6,65	155,37	33,97
2	62	15	15	w	2,68	16,25	*0.17	1,31	114,3	16,47	6,7	4,54	0OR <	2,07	0OR <	1,12	4,46	0OR <	9,69	189,07	103,56
3	134	17	17	w	5,1	59,2	8,69	*0.64	117,2	15,42	9,57	9,65	2,88	4,89	9,94	*1,00	54,61	17,14	39,34	156,91	68,28
4	283	17	17	m	*0.15	0OR <	0OR <	*0.96	19,78	7,4	5,72	4,48	0OR <	*0.32	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	*0.86	107,52	102,13
5	406	6	6	w	1,09	9,74	0OR <	2,32	46,07	7,18	5,03	3,1	0OR <	2,43	0OR <	*3,10	0OR <	0OR <	8,74	166,14	50,55
6	862	8	8	w	*1,04	37,98	0OR <	*0.32	138,84	10,78	4,84	3,79	0OR <	2	0OR <	0OR <	0OR <	26,03	10,05	60,45	62,32
7	1176	16	16	m	*0.16	0OR <	0OR <	*0.28	13,31	10,78	6,26	3,56	0OR <	1,26	*1,66	0OR <	0OR <	*0.17	6,02	117,89	72,41
8	3127	17	17	m	0OR <	0OR <	0OR <	*0.69	51,29	11,78	11,53	1,97	0OR <	*0.81	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	*1,21	202,81	55,33
9	3130	17	17	w	*0.41	7,22	0OR <	*0.77	59,07	13,89	6,02	3,56	0OR <	2,5	0OR <	*0,85	0OR <	7,65	8,5	126,03	34,77
10	3295	12	11	w	*0.66	0OR <	0OR <	*0.32	16,56	6,89	5,74	6,82	0OR <	1,49	*1,09	0OR <	0OR <	0OR <	*2,47	116,43	129,12
11	3417	17	17	w	*0.01	0OR <	0OR <	*0.45	17,02	14,74	9,4	2,64	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	4,98	109,11	89,02	
12	3447	12	12	w	*0.59	*1,23	0OR <	*0.13	22,97	13,15	6,91	1,89	0OR <	*0.65	0OR <	*0,02	*1,71	0OR <	0OR <	89,88	113,15
13	3522	21	12	w	*0.48	*3,39	0OR <	*0.24	33,74	11,52	7,77	1,24	0OR <	1,41	*3,93	*0,44	4,84	3,02	7,28	231,19	123,15
14	3528	12	12	m	*0.25	13,98	0OR <	*0.74	87,15	13,74	10,19	12,18	0OR <	2,57	0OR <	*0,81	12,57	0OR <	7,52	91,65	104,45
15	3584	21	16	m	1,2	*3,30	0OR <	1,27	63,79	11,98	5,55	3,79	0OR <	*0.49	*1,26	1,86	13,65	7,31	0OR <	88,05	97,92
16	3691	17	17	w	*0.61	*2,79	0OR <	*0.30	29,73	10,02	9,05	2,29	0OR <	*0.32	0OR <	0OR <	0OR <	*0.47	*3,20	89,15	59,29
17	3718	15	15	m	*0.41	0OR <	0OR <	1,13	32,41	5,27	10,72	1,62	0OR <	*0.73	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	*2,62	124,69	86,57
18	3731	17	11	w	*0.78	7,85	0OR <	*0.42	31,52	10,73	11,07	2,76	0OR <	*0.65	0OR <	*0,24	0OR <	*1,02	0OR <	190,87	71,21
19	3951	12	16	w	*0.57	0OR <	0OR <	1,09	47,37	6,5	8,8	4,22	0OR <	1,56	*3,59	0OR <	*3,30	0OR <	*1,21	220,6	76,58
20	4015	16	16	w	*0.20	5,28	0OR <	*0.47	11,66	9,11	8,64	2,18	0OR <	1,26	*0,28	*0,44	0OR <	0OR <	4,71	93,14	146,6
21	4074	18	18	w	*0.38	0OR <	0OR <	2,13	27,49	8,23	11,89	6,45	0OR <	4,49	*1,00	1,08	10,22	0OR <	3,9	195,71	55,38
22	4078	19	19	w	*0.62	0OR <	0OR <	*0.49	40,81	13,62	16,84	2,35	0OR <	2,14	*2,22	*0,28	5,6	*0,63	7,89	150,42	105,48
23	4087	17	11	w	1,09	*1,41	0OR <	*0.77	28,16	15,8	22,43	6,79	0OR <	8,82	4,78	*1,00	5,41	0OR <	4,98	193,23	152,86
24	4158	18	18	m	*0.34	0OR <	0OR <	*0.56	33,3	5,19	11,88	2,29	0OR <	*0.32	0OR <	0OR <	*1,29	0OR <	*0,04	125,12	64
25	4335	20	20	w	0OR <	0OR <	0OR <	*0.31	53,02	10,15	11,13	2,76	0OR <	1,56	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	124,5	61,28
26	5023	15	15	w	15,19	100,23	1,74	1,47	406,85	7,71	10,38	7,84	0OR <	3,81	*0,46	2,48	206,57	128,31	16	125,07	115,66
27	5066	20	20	w	5,29	5,37	*0.17	*0.61	22,06	10,52	11,07	2,93	*0,34	5,81	*2,09	7,06	262,43	*1,10	*0,68	153,69	100,72
28	5173	19	19	m	*0.15	*0.30	0OR <	*0.47	52,59	6,81	5,58	2,06	0OR <	1,41	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	101,11	64,08
29	5394	12	12	m	1,16	0OR <	0OR <	*0.28	31,52	15,86	16,03	3,91	0OR <	*0.81	0OR <	*0,11	*0,88	*0,24	*1,70	63,03	80,83
30	5407	19	18	m	1,42	*1,14	0OR <	*0.37	38,17	7	4,85	2,29	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	74,04	73,7
31	5754	20	20	m	0OR <	0OR <	0OR <	*0.06	19,32	10,19	5,33	2,38	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	76,27	37,72
32	60	27	22	w	*0.41	*3,13	0OR <	1,09	35,52	24,17	5,11	7,84	2,42	3,54	0OR <	0OR <	0OR <	2,7	4,17	145,42	38,7
33	135	23	23	m	*0.15	*1,76	0OR <	*0.56	43,66	6,31	2,79	2,29	0OR <	*0.81	*0,18	*0,11	0OR <	0OR <	4,04	140,62	95,7
34	408	26	26	w	*0.30	*2,62	0OR <	*0.23	34,41	13,99	6,74	2,12	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	4,04	128,74	43,04
35	545	22	22	w	0OR <	5,93	0OR <	*0.23	42,57	6,24	6,59	7,95	0OR <	*0.32	*0,18	*0,85	0OR <	3,84	*0,86	193,36	76,77
36	633	27	27	n.b.	*0.10	0OR <	0OR <	*0.34	23,65	11,29	12,81	2,93	0OR <	0,96	*1,79	*0,52	0OR <	0OR <	7,65	335,68	58,49
37	860	21	21	m	0OR <	0OR <	0OR <	*0.28	15,64	4,33	3,96	*0,29	0OR <	*0.23	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	107,92	35,13
38	946	26	26	w	4,19	14,2	0OR <	*0.77	187,84	12,94	7,63	18,24	0OR <	*0.49	0OR <	0OR <	*3,49	62,96	21,58	83,2	59,43
39	959	23	22	w	*0.43	0OR <	0OR <	1,09	17,49	9,96	10,3	3,16	0OR <	2,14	*0,18	0OR <	0OR <	0OR <	5,37	183,97	102,32
40	1022	30	30	w	1,52	0OR <	0OR <	1,8	25,01	7,74	11,51	57,86	0OR <	2,07	*2,44	0OR <	*1,71	0OR <	4,71	274,95	129,78
41	1363	27	21	w	*0.13	15,8	0OR <	*0.50	32,41	4,71	10,03	5,22	0OR <	*0.14	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	13,02	206,61	38,21
42	2954	22	22	w	0OR <	0OR <	0OR <	*0.15	27,49	12,86	5,13	2,12	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	0OR <	171,85	53,89

43	3083	30	30	w	35,04	185,63	5,38	1,2	719,88	13,75	10,2	11,67	0,00	2,14	0,00	12,74	84,29	218,8	53,76	311,01	63,59
44	3087	30	26	w	*0,97	8,64	0,00	2,18	39,49	9,95	6,32	4,19	*3,59	1,78	*0,35	*0,77	5,98	3,92	7,65	140,06	144,07
45	3168	22	22	w	0,00	*1,05	0,00	*0,37	81,66	5,56	8,36	3,28	0,00	*0,81	0,00	*0,48	0,00	4,49	*0,49	192,97	60,53
46	3305	25	25	m	*0,04	0,00	0,00	*0,17	33,08	10,88	7,32	2,87	0,00	*0,14	*0,82	0,00	*2,90	0,00	*1,04	86,06	97,43
47	3353	27	27	w	*0,36	0,00	0,00	*0,34	27,04	4,2	5,4	2,24	0,00	1,04	0,00	*0,36	0,00	0,00	*3,34	89,72	122,56
48	3422	21	21	m	0,00	0,00	0,00	0,00	24,33	9,08	5,93	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	58,83	86,56
49	3486	29	29	m	0,00	0,00	0,00	*0,42	9,53	12,92	8,37	1,57	0,00	1,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	180,4	60,83
50	3535	22	22	m	0,00	0,00	0,00	*0,20	14,47	19,65	10,54	2,06	0,00	2,64	0,00	*0,11	0,00	0,00	*1,21	128,6	100,44
51	3536	22	22	m	0,00	0,00	0,00	*0,15	11,43	9,56	8,78	1,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	110,89	64,18
52	3636	24	24	w	1,51	25,66	0,00	2,25	86,73	19,58	12,28	362,33	22,66	9,89	*2,48	1,94	23,98	6,31	16,64	145,7	134,85
53	3649	49	24	w	*0,34	*0,68	*0,52	*0,34	26,14	8,94	7,04	7,44	0,00	1,26	0,00	*0,44	*2,11	0,00	*3,48	146,76	68,94
54	3681	28	28	m	*0,99	*3,13	0,00	*0,34	36,84	11,12	9,89	2,53	0,00	5,94	0,00	*0,69	5,22	0,00	5,76	85,27	91,6
55	3870	30	30	w	*0,52	0,00	0,00	*0,28	96,59	5,67	6,5	2,26	0,00	*0,81	0,00	0,00	*2,11	0,00	8,5	100,4	74,12
56	3908	23	22	w	0,00	0,00	0,00	*0,77	10,48	5,88	6,03	1,13	3,6	11,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	61,03	56,09
57	3911	26	26	w	*0,13	0,00	0,00	*0,26	27,26	8,36	8,68	1,24	0,00	0,00	0,00	0,00	*1,29	0,00	*2,17	113,4	76,19
58	4123	22	21	w	*0,45	4,79	0,00	*0,58	75,31	6,68	6,6	3,1	0,00	1,26	0,00	*0,60	*2,51	2,21	7,52	176,91	116,39
59	4170	27	27	w	0,00	0,00	0,00	*0,34	12,84	8,94	7,14	1,77	0,00	2	0,00	*0,32	0,00	0,00	*0,04	76	66,24
60	4205	33	30	m	*0,48	0,00	0,00	*0,69	29,73	13,06	8,19	4,54	0,00	0,96	*3,42	*0,89	4,27	0,00	0,00	35,67	169,44
61	4212	26	26	m	*0,13	0,00	0,00	*0,19	13,54	10,79	6,6	3,62	0,00	*0,88	0,00	*0,56	*0,22	0,00	0,00	117,06	103,61
62	4242	25	25	m	*0,20	0,00	0,00	*0,28	17,72	8,65	12,66	3,62	0,00	*0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	76,44	128,58
63	4244	30	30	w	0,00	0,00	0,00	*0,45	12,37	6,98	7,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	46,76	75,91
64	4511	29	29	w	*0,08	5,61	0,00	*0,62	13,07	3,74	7,73	*0,77	0,00	*0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,68	38,46
65	4634	25	25	w	*0,34	0,00	0,00	*0,39	33,74	6,36	2,79	0,71	0,00	1,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	53,54	59,52
66	4635	30	30	w	1,98	*1,23	*0,07	*0,69	11,27	8,47	7,76	0,00	0,00	2,57	0,00	2,02	*1,29	8,99	7,28	79,62	70,46
67	4814	21	21	w	*0,90	4,14	0,00	1,12	41,69	9,2	11,72	2,7	0,00	1,19	0,00	0,00	*2,11	0,00	*1,54	189,93	86,33
68	4876	22	21	w	487,35	1347,74	418,01	28,28	0,00	130,78	481,06	172,01	1154,88	551,4	681,89	814,07	5586,25	5723,84	1180,56	984,56	377,06
69	5103	22	22	m	0,00	0,00	0,00	*0,20	10,48	14,04	6,38	3,19	0,00	*0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	83,41	52,31
70	5146	28	27	w	*0,04	0,00	0,00	*0,30	*1,62	6,67	4,67	1,42	0,00	*0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	47,13	114,31
71	5156	25	25	w	*0,38	0,00	0,00	*0,26	52,16	10,59	10,29	2,12	0,00	*0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	8,02	152,01	153,34
72	5319	27	27	m	0,00	0,00	0,00	*0,38	4,67	8,92	6,88	1,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	62,8	73,76
73	5340	30	29	w	0,00	0,00	0,00	*0,23	17,95	7,62	6,65	1,48	0,00	*0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	126,22	74,11
74	5421	49	29	w	*0,34	0,00	0,00	*0,28	23,43	10,91	11,6	2,18	0,00	1,56	0,00	*0,81	12,57	0,00	8,38	220,73	96,81
75	5453	30	30	w	0,00	0,00	0,00	*0,16	4,18	4,14	3,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	70,73	17,78
76	5564	22	22	m	0,00	0,00	0,00	*0,61	17,49	11,85	7,29	3,45	0,00	4,89	0,00	0,00	5,22	0,00	0,00	95,2	63,18
77	5665	23	23	w	1,59	0,00	0,00	*0,35	8,81	5,04	7,79	3,19	0,00	1,49	*1,26	*0,44	4,46	0,00	4,98	100,45	87,62
78	5699	25	25	m	1,31	12,37	*0,13	*0,88	237,11	30,52	21,2	36,53	*0,34	4,89	*1,18	2,55	12,57	2,86	18,35	373,62	65,03
79	76	34	34	m	*0,66	*1,23	0,00	*0,85	31,52	10,45	11,5	5,17	*1,06	1,49	*3,55	1,08	11,49	0,00	6,78	222,84	100,59
80	411	41	36	m	*0,08	*2,79	0,00	1,04	17,25	17,63	8,52	1,01	0,00	*0,88	*2,00	*0,28	*0,88	0,00	5,5	215,49	77,95
81	468	39	39	w	*0,41	10,05	0,00	*0,84	32,41	5,33	13,5	*0,77	0,00	2,29	0,00	0,00	0,00	0,00	6,53	365,73	59,24
82	2934	46	37	m	*0,74	*1,76	0,00	*0,47	80,39	13,95	9,48	2,93	0,00	1,56	7,29	1,71	16,31	0,00	13,14	195,41	187,77
83	3005	35	35	m	7,92	38,06	*0,74	*0,23	255,78	9,65	7,25	2,26	0,00	1,26	*0,64	8,59	102,5	36,59	7,77	99,08	109,52
84	3053	34	34	m	*0,15	0,00	0,00	*0,34	27,49	18,47	7,92	4,82	0,00	*0,81	0,00	0,00	*1,71	0,00	3,9	163,06	85,6
85	3064	40	39	m	0,00	0,00	0,00	*0,42	26,14	9,49	7,85	2,41	0,00	1,04	0,00	0,00	0,00	0,00	4,17	119,3	70,29
86	3292	36	36	w	*0,99	4,14	0,00	1,89	34,41	7,4	9,92	6,65	2,51	10,26	0,00	1,4	4,84	4,25	9,22	44,21	42,19
87	3293	37	37	w	0,00	20,81	0,00	*0,82	66,79	8,46	14,23	1,13	0,00	*0,81	0,00	*0,69	0,00	0,00	*1,54	60,45	52,72
88	3470	32	32	w	0,00	13,29	0,00	*0,23	56,05	16,84	8,95	2,21	0,00	*0,32	0,00	0,00	0,00	7,9	*2,47	118,47	37,88
89	3478	41	36	m	1,7	0,00	*0,27	*0,65	22,97	3,34	5,96	4,74	0,00	1,64	*2,74	1,75	6,91	7,65	7,77	166,67	78,88
90	3589	37	35	w	0,00	0,00	0,00	*0,13	18,87	8,52	5,35	*0,11	0,00	*0,81	0,00	*0,28	0,00	0,00	*0,04	105,23	68,44
91	3593	33	33	w	6,13	23,17	2,18	1,49	98,48	13,31	17,02	12,35	2,18	3,88	7,54	5,11	86,04	52,38	52,97	469,66	195,15
92	3658	36	36	w	*0,31	*0,68	0,00	*0,64	42,57	4,69	7,25	2,99	0,00	3,13	0,00	*0,69	0,00	0,00	5,24	209,64	90,04

143	3963	50	50	w	*0.41	*1.76	0.46	83.35	17.06	9.98	3.28	0.00	16.69	0.00	1.55	11.49	0.00	5.24	101.51	107.55
144	4002	42	42	w	*0.13	0.00	*0.26	45.85	13.99	11.47	1.65	0.00	0.00	0.00	*0.44	0.00	0.00	5.76	299.17	104.75
145	4010	42	42	w	*0.31	*0.49	1.49	29.51	15	9.45	34.64	0.00	20.45	0.00	0.00	*1.29	0.00	*3.62	153.97	96.73
146	4079	49	49	w	0.00	0.00	*0.50	13.77	21.34	10.98	*0.53	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	7.52	185.05	35
147	4127	42	41	w	*0.55	0.00	*0.50	34.41	7.2	15.32	*0.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	12.35	252.38	131.72
148	4288	41	41	m	31.05	43.51	1.71	24.33	14.23	10.75	7.1	8.92	12.23	*3.12	29.6	1099.73	21.88	*0.86	146.34	70
149	4362	55	46	m	*0.06	0.00	*0.28	10.48	7.06	9.6	2.7	0.00	*0.32	0.00	0.00	0.00	0.00	*2.01	85.48	46.18
150	4447	47	47	w	0.00	0.00	*0.20	25.69	3.6	5.69	*0.38	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	123.73	50.64
151	4521	50	50	m	*0.29	0.00	*0.45	32.19	3.95	10.51	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.84	1.49	*2.02	85.48	46.18
152	4582	54	47	m	0.00	0.00	*0.31	49.77	9.41	5.82	2.12	0.00	*0.88	0.00	*0.28	2.90	0.00	6.02	223.13	68.05
153	4655	44	41	w	*0.22	*2.96	0.12	36.4	19.05	9.64	2.64	0.00	3.27	*0.82	*0.28	*2.71	0.00	*2.32	162.21	69.57
154	4808	49	49	m	*0.24	0.00	*0.64	21.15	17.51	8.42	1.83	0.00	*0.81	0.00	0.00	0.00	0.00	*2.47	111.88	107.05
155	4848	55	47	m	0.00	0.00	1.04	17.95	3.84	9.8	0.00	0.00	*0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	214.28	92.36
156	4878	57	48	w	*0.06	0.00	*0.23	13.31	6.2	8.16	*0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	239.95	90.95
157	4998	42	41	w	0.00	0.00	*0.26	12.13	10.38	5.15	1.65	0.00	*0.49	0.00	*0.06	0.00	0.00	0.00	97.66	68.97
158	5054	48	47	w	*0.76	47.8	0.00	129.59	4.33	12.92	*0.14	5.84	1.11	0.00	0.00	12.57	0.00	0.00	146.21	90.17
159	5119	44	44	m	0.00	0.00	*0.28	12.84	7.81	4.82	3.79	0.00	2.85	0.00	*0.52	0.00	0.00	0.00	122.82	81.97
160	5188	41	41	w	*0.29	*2.62	0.23	20.24	8.6	6.47	*0.56	0.00	0.00	0.00	*0.52	0.00	0.00	0.00	67.84	71.53
161	5243	57	50	w	0.00	0.00	*0.53	16.1	6.05	11.51	3.88	0.00	0.00	0.00	*0.02	0.00	0.00	*0.04	102.52	80.99
162	5249	43	42	m	2.07	0.00	*0.09	38.17	7.11	9.9	3.78	*0.94	7.11	0.00	1.4	*0.88	0.00	9.93	117.26	83.42
163	5292	44	43	w	3.68	35.99	0.00	184.21	11.42	8.64	*0.35	0.00	*0.65	0.00	*0.93	*2.11	48.93	7.15	169.25	62.58
164	5392	44	44	w	*0.57	0.00	*0.43	50.85	7.74	8.24	*0.68	0.00	*0.23	0.00	0.00	0.00	0.00	6.27	126.89	123.48
165	5517	42	42	m	161.38	413.42	86.52	1387.27	66.45	16.27	285.72	181.32	314.27	0.00	142.9	1000.51	1188.95	367.77	659.07	95.93
166	5537	50	49	w	*0.06	0.00	*0.82	26.59	8.35	13.46	2.53	0.00	1.26	0.00	*0.11	0.00	0.00	0.00	202.89	59.43
167	5593	49	49	w	0.00	0.00	*0.22	20.92	9.28	16.34	*0.83	0.00	*0.32	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	133.04	84.1
168	5724	43	43	m	0.00	0.00	*0.26	9.05	6.71	5.85	1.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	137.26	98.3
169	5804	50	50	w	0.00	0.00	*0.15	35.52	11.32	8.34	1.36	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	99.23	46.14
170	287	75	66	w	0.00	0.00	*0.56	54.54	6.22	16.47	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	101.01	66.47
171	546	57	57	w	*0.41	6.42	0.00	27.94	3.39	6.06	0.00	0.00	*0.65	0.00	0.00	0.00	0.00	*2.62	119.59	67.62
172	1171	61	60	w	*0.22	*0.39	0.00	19.32	8.78	13.28	1.94	0.00	*0.65	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	312.24	80.25
173	1186	71	66	w	0.00	0.00	*0.26	10.48	7.81	12.04	1.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	137.08	33.58
174	1241	53	53	w	*0.25	0.00	*0.47	26.81	13.48	9.7	3.74	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	128.79	65.6
175	2951	79	75	w	*0.63	0.00	*0.80	166.43	17.37	25.26	6.07	0.00	*0.78	0.00	*2.19	0.00	0.00	4.03	231.06	102.8
176	2983	62	59	w	*0.50	*13.69	0.00	30.09	5.76	4.48	2.66	0.00	4.32	4.28	*0.72	0.00	0.00	*3.68	200.23	74.09
177	3008	56	56	w	2.11	25.51	*0.43	103.21	12.38	5	49.41	*0.15	2.95	*0.40	*0.65	6.72	51.08	16.77	174.54	36.32
178	3105	54	52	w	0.00	0.00	*0.85	23.29	9.2	7.36	*0.91	0.00	*0.45	0.00	*2.12	1.62	0.00	6.72	282.72	41.81
180	3306	64	62	m	*0.37	*3.84	0.00	105.3	11.53	10.94	4.36	0.00	*0.78	*2.02	*0.78	*0.25	0.00	11.86	293.92	43.92
179	3216	59	56	w	*0.34	0.00	1.53	63.15	11.41	10.28	1.12	0.00	*0.61	*1.79	*0.85	0.00	0.00	3.26	242.2	99.74
181	3363	52	52	w	*0.39	0.00	*0.54	27.39	12.3	7.67	3.1	0.00	*0.61	*2.70	1.49	0.00	0.00	4.46	217.9	90.83
182	3378	55	55	w	*0.42	0.00	*0.80	30.09	9.6	5.59	2.93	0.00	1.25	4.68	*0.59	0.00	*1.76	5.6	207.26	68.39
183	3406	59	54	w	*0.50	0.00	1.04	22.37	6.08	7.37	2.22	*0.42	7.14	0.00	0.00	*3.08	0.00	3.15	220.39	73.21
184	3413	56	54	w	*0.75	0.00	*0.63	29.64	11.62	5.95	1.69	0.00	1.88	0.00	*0.91	0.00	0.00	5.09	122.38	76.18
185	3450	69	68	m	1.36	0.00	*0.43	57.17	15.75	12.95	4.73	0.00	3.64	*3.47	2.46	15.35	7.05	12.04	385.22	139.47
186	3476	52	52	m	*0.26	0.00	*0.64	17.7	6.1	4.17	1.52	0.00	*0.12	*0.18	*0.33	0.00	0.00	3.38	161.57	71.31
188	3639	64	64	w	*0.22	0.00	*0.67	90.21	12.57	5.71	2.22	0.00	2.19	*1.35	*0.87	0.00	0.00	9.63	179.09	59.83
187	3632	76	70	m	*0.52	0.00	*0.91	78.42	23.85	8.4	2.85	0.00	1.1	*1.45	*0.98	0.00	4.53	5.81	250.79	144.55
189	3818	73	69	m	*0.53	0.00	*0.84	104.47	11.15	7.89	3.39	0.00	1.72	3.94	*0.72	0.00	*2.82	2.24	276.02	127.8
190	3832	64	55	m	*0.43	0.00	1.68	35.88	8.96	3.69	2	0.00	*0.61	*1.48	*0.91	0.00	8.96	144.53	66.23	
191	4076	56	55	w	*0.57	0.00	*0.69	83.9	5.21	13.21	2.9	0.00	2.11	*3.20	1.94	*1.33	0.00	5.81	292.65	99.3
192	4238	52	52	m	*0.36	0.00	*0.50	58.88	5.57	9.22	4.04	0.00	1.25	0.00	*0.33	0.00	0.00	7.9	111.86	38.39

***Value not available / --- = Designated as an outlier
*Value extrapolated beyond standard range
OOR = Out of Range / OOR> = Out of Range Above / OOR< = Out of Range Below
Exp Conc = Expected Concentration / Obs Conc = Observed Concentration
Ratio = Member/Reference

Danksagung

Mein besonderer und herzlicher Dank gilt *Prof. Dr. Bernhard O. Böhm*, Schwerpunktleiter Endokrinologie, Diabetes und Stoffwechsel der Universitätsklinik Ulm für die Bereitstellung des interessanten Themas und für die sehr hilfreiche und äußerst vielfältige Unterstützung während meiner Dissertation.

Ebenfalls einen besonderen Dank spreche ich *Prof. Dr. R. Holl*, Abteilung Epidemiologie, Universität Ulm aus, der eine sehr große Hilfe bei der Datenanalyse war und so nett war, einen Teil seines erstaunlichen und umfangreichen analytischen Wissens mit mir zu teilen. Auch danke ich recht herzlich für die Möglichkeit der Verwendung der Seren des ADBW.

Diese Arbeit wäre nicht entstanden ohne die große Hilfe von *Dr. Silke Rosinger*. Sie hat mir durch ihren fachlichen Rat und ihre konstruktive Kritik bei der Ausarbeitung und Formulierung der Arbeit geholfen. Ihre Unterstützung war unerlässlich bei der Durchführung meiner Experimente, vor allem dem Zytokin-Assay.

Weiterhin gilt mein Dank dem *Graduiertenkolleg „Molecular Diabetology and Endocrinology in Medicine“* für die wissenschaftliche Weiterbildung und finanzielle Förderung.

Für stets hilfreiche Ratschläge und organisatorische Unterstützung möchte ich *Tina Locher* einen großen Dank aussprechen.

Auch allen *Mitarbeitern und Doktoranden* der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. B. O. Böhm, wie auch Silvia Höpfer, gilt mein Dank für die großzügige Unterstützung, für Tipps, Kniffe und aufmunternde Worte bei der praktischen Arbeit.

Den *Mitgliedern und Stipendiaten des Graduiertenkollegs* danke ich für ihre hilfreichen Ratschläge und die netten Abende, die wir zusammen erleben durften und die ich nie vergessen werde.

Für jegliche Hilfestellung, wie gute Ratschläge und Gespräche, möchte ich all meinen *Freunden und Studienkollegen* sehr danken.

Zuletzt gilt mein größter Dank meiner Familie, allen voran meinen *Eltern* und meiner *Schwester Verena*. Sie haben mich in guten und in schlechten Tagen immer sehr liebevoll unterstützt.

Lebenslauf

- Name:** Christiane Michaela Heinrich
- Geburtsdatum:** 06.04.1982
- Geburtsort:** Landsberg am Lech
- Schulbildung:** 1988 - 1992 Weststadt-Schule Landsberg a. Lech
1992 - 2002 Ignaz-Kögler-Gymnasium Landsberg a. Lech
↳ Abitur 2002
- Studium:** Seit Okt. 2002 Studium der Humanmedizin Universität Ulm
↳ Physikum Herbst 2004
Seit Aug. 2007 Praktisches Jahr
- 1. Tertial: Chirurgie
Klinik für Viszerale und Transplantationschirurgie
Inselspital Bern, Schweiz
 - 2. Tertial: Radiologie
Klinikum Kempten-Oberallgäu
- Famulaturen:**
- Innere Medizin
Klinikum Landsberg am Lech
 - Chirurgie
Franziskus-Krankenhaus
Akademisches Lehrkrankenhaus der Charité Berlin
 - Praxis für Innere Medizin
Endokrinologikum Ulm
 - Sonographische Ambulanz
Universitätsklinik Ulm
 - Emergency Medicine
Beth Iseal Medical Center, New York, USA

Landsberg am Lech, den 13.02.2008